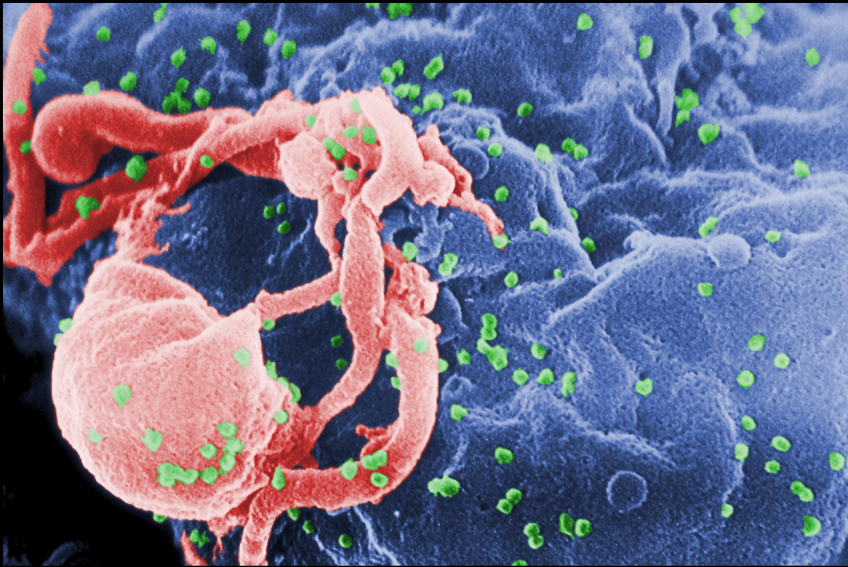


Biologia



Rodomontano

Indice degli argomenti

1	ELEMENTI DI BIOCHIMICA	2
1.1	Struttura atomica	2
1.2	Elementi e composti	3
1.3	Isotopi e decadimenti.....	3
1.4	La tabella periodica.....	6
1.5	Livelli energetici ed orbitali	7
1.6	Simbologia chimica.....	10
1.7	Il peso (massa) degli atomi e delle molecole	11
1.8	Il legame chimico	12
1.8.1	Legame ionico	13
1.8.2	Legame covalente.....	14
1.8.3	Legame covalente polare	16
1.9	Legami intermolecolari	17
1.9.1	Legame Idrogeno.....	17
1.10	Peculiarità chimico-fisiche e importanza biologica dell'acqua	17
1.10.1	Caratteristiche termiche dell'acqua e funzione termoregolatrice	19
1.10.2	Capillarità e imbibizione.....	19
1.10.3	Le soluzioni acquose ed il pH.....	20
2	LA CHIMICA DELLA VITA.....	22
2.1	Il carbonio	22
2.1.1	carbonio tetraedrico	22
2.1.2	Carbonio planare	24
2.1.3	Carbonio lineare	25
2.2	Glucidi (carboidrati o zuccheri).....	26
2.2.1	Monosaccaridi.....	26
2.2.2	Disaccaridi e Polisaccaridi.....	28
2.3	Lipidi	29
2.3.1	Lipidi semplici.....	31
2.3.2	Lipidi composti	32
2.4	Protidi.....	33
2.4.1	Struttura primaria.....	35
2.4.2	Struttura secondaria	35
2.4.3	Le proteine filamentose o fibrose	40
2.4.4	Struttura terziaria: le proteine globulari.....	43
2.4.5	Struttura quaternaria	47
2.5	Acidi nucleici: DNA ed RNA	50
2.5.1	La struttura secondaria del DNA: la doppia elica	52
2.5.2	Funzioni biologiche del DNA	55
2.5.3	La struttura secondaria dell'RNA	57
2.5.4	Funzioni biologiche dell'RNA	57
2.5.5	Sintesi proteica.....	58
2.5.6	Trascrizione – sintesi dell'RNA	58
2.5.7	Traduzione.....	62
2.5.8	Derivati dei nucleotidi: ATP e NAD.....	63
3	CITOLOGIA	64

3.1	Cellule procarioti ed eucarioti	65
3.2	Il microscopio	66
4	LA CELLULA EUCARIOTE ANIMALE	68
4.1	Membrana plasmatica	68
4.1.1	<i>membrana: trasporto</i>	69
4.1.2	<i>Membrana: locomozione</i>	74
4.1.3	<i>Membrana: interazione ed integrazione con l'ambiente</i>	74
4.2	Citoplasma e citosol	79
4.3	Reticolo endoplasmatico	79
4.4	Apparato di Golgi	80
4.5	Lisosomi	80
4.6	Perossisomi	81
4.7	Sistema citoscheletrico	82
4.7.1	<i>Il citoscheletro</i>	82
4.7.2	<i>Centro organizzatore dei microtubuli (MTOC)</i>	84
4.7.3	<i>Ciglia e flagelli</i>	86
4.8	Ribosomi	89
4.9	Mitocondri	89
4.10	Respirazione aerobica	90
4.10.1	<i>Glicolisi</i>	90
4.10.2	<i>Ciclo di krebs</i>	91
4.10.3	<i>Fosforilazione ossidativa</i>	91
4.11	Teoria endosimbiontica	94
4.12	Vie metaboliche anaerobiche	95
4.12.1	<i>Fermentazione lattica</i>	95
4.12.2	<i>Fermentazione alcolica</i>	95
4.13	Nucleo	95
4.13.1	<i>Cromatina e cromosomi</i>	96
4.13.2	<i>il genoma umano</i>	100
4.14	La regolazione dell'espressione genica	102
5	CELLULA EUCARIOTE VEGETALE	105
5.1	Parete cellulare	105
5.2	Vacuolo	105
5.3	Plastidi	105
5.4	Cloroplasto e fotosintesi clorofilliana	106
5.4.1	<i>Fase luminosa e fotosistemi</i>	107
5.4.2	<i>Fase oscura e ciclo di Calvin-Benson</i>	110
5.4.3	<i>Piante C4</i>	111
5.4.4	<i>Piante CAM</i>	111
6	DIVISIONE CELLULARE: MITOSI E MEIOSI	111
6.1	La mitosi ed il ciclo cellulare	112
6.2	Meiosi	114
7	GENETICA	116
7.1	Genetica classica	116

7.2	Mendel: le leggi dell'ereditarietà	118
7.2.1	Legge della dominanza	119
7.2.2	Legge della segregazione	120
7.2.3	Incroci: frequenza e probabilità (il quadrato di Punnett).....	121
7.2.4	Reincrocio o Test-cross	123
7.2.5	Segregazione ed assortimento indipendente (legge dell'indipendenza).....	125
7.3	Morgan: l'associazione di geni ed il crossing-over	129
7.3.1	Mappe cromosomiche	131
7.4	Determinazione genetica del sesso	132
7.5	Eredità legata al sesso	133
7.6	Interazione tra geni	138
7.6.1	Epistasi	139
7.6.2	Complementazione	141
7.6.3	Duplicazione genica.....	144
7.6.4	Soppressione genica.....	145
7.7	La bontà dell'adattamento: il test del chi-quadrato	146
7.8	Penetranza ed espressività	148
7.9	Pleiotropia	149
7.10	Eredità poligenica: caratteri non mendeliani a variabilità continua	149
7.11	Mutazioni genetiche	152
7.11.1	Mutazioni geniche	153
7.11.2	Mutazioni cromosomiche.....	155
7.11.3	Mutazioni genomiche.....	157
7.12	Malattie genetiche	159
7.12.1	Malattie geniche autosomiche.....	159
7.12.2	Malattie geniche legate al sesso (sex-linked)	161
7.12.3	Malattie genetiche multifattoriali	162
7.12.4	Malattie genetiche mitocondriali.....	162
8	INGEGNERIA GENETICA.....	163
8.1	Gli enzimi di restrizione.....	164
8.2	cDNA (DNA complementare)	165
8.3	Vettori genici	165
8.3.1	Plasmidi.....	167
8.3.2	Vettori virali	170
8.3.3	Cosmidi	172
8.3.4	Vettori navetta (shuttle)	173
8.3.5	Vettori del lievito	173
8.3.6	Cromosomi artificiali.....	174
8.4	Piante transgeniche	174
8.5	Animali transgenici e terapia genica.....	175
8.6	Selezione delle cellule transgeniche	175
8.7	Librerie genomiche	175
8.8	Amplificazione DNA: PCR.....	176
8.9	Polimorfismo della lunghezza dei frammenti di restrizione (RFLP)	177
8.10	DNA ricombinante e principio di precauzione.....	179
9	EVOLUZIONISMO	183
9.1	James Hutton e l'uniformismo	184

9.2	Charles Lyell e l'attualismo	185
9.3	Evoluzione biologica: i precursori.....	186
9.4	Lamarck e l'ereditarietà dei caratteri acquisiti	187
9.5	Darwin e la selezione naturale.....	188
9.6	L'evoluzionismo post-darwiniano	191
9.7	La teoria sintetica dell'evoluzione	192
9.8	La genetica di popolazione.....	193
9.9	Microevoluzione e fattori evolutivi.....	196
9.9.1	<i>Mutazioni</i>	196
9.9.2	<i>Flusso genico</i>	196
9.9.3	<i>Deriva genetica</i>	197
9.9.4	<i>Modalità di incrocio</i>	198
9.9.5	<i>Selezione naturale e fitness</i>	200
9.10	Speciazione	202
9.11	Coevoluzione, convergenza evolutiva e preadattamento	205
9.12	Modelli evolutivi: gradualismo filetico ed equilibri punteggiati	206
9.13	Le prove dell'evoluzione	207
9.14	Evoluzione ed idea di progresso.....	208

BIOLOGIA

Tutti gli esseri viventi sono costituiti da una (*unicellulari*) o più (*pluricellulari*) cellule.

La cellula può essere considerata come la più piccola porzione di un essere vivente in grado di conservare le caratteristiche della vita (nutrizione, riproduzione etc.).

La **citologia** è la branca della biologia che studia la cellula.

Le cellule vennero osservate per la prima volta nel 1600 da Robert Hooke, il quale, analizzando attraverso un microscopio (strumento da poco inventato) sottili sezioni di sughero, mise in evidenza l'esistenza di piccole cellette, che egli chiamò appunto cellule (dal latino "*cellula*" = piccola cella).

Ma quella che oggi chiamiamo "**teoria cellulare**" si affermò solo nella prima metà dell'Ottocento ad opera di Schleiden, Schwann e Virchow. Nella sua formulazione moderna la teoria cellulare afferma che tutti gli esseri viventi sono costituiti da cellule e che ogni cellula si genera da altre cellule.

La cellula, come tutta la materia ordinaria, è costituita di sostanze chimiche.

Lo studio dei composti chimici e dei fenomeni fisico-chimici che stanno alla base della vita ha assunto un'importanza via via maggiore, tanto che oggi vi è addirittura una branca della chimica moderna che se ne occupa, la **biochimica**.

Inoltre alcuni composti chimici quali ad esempio gli acidi nucleici (RNA e DNA) e le proteine, vengono sintetizzati solo dagli esseri viventi e sono talmente importanti nel regolare tutte le loro attività da essere studiati dalla **biologia molecolare**.

La biochimica e la biologia molecolare rappresentano un tentativo riduzionistico ed in qualche modo meccanicistico di spiegare il tutto attraverso l'analisi delle sue parti elementari e dei modi in cui queste si integrano e si organizzano.

Il livello di organizzazione cellulare manifesta in altre parole un livello di organizzazione sottostante che potremo definire **livello molecolare**. E questo a sua volta un livello inferiore detto **livello atomico**.

La materia si struttura organizzandosi attraverso più livelli a complessità crescente e la scienza moderna cerca di spiegare ciascun livello, "riducendolo" a quello più elementare che lo precede, in un gioco delle scatole cinesi che non ha finora ancora trovato la sua fine.

Così il livello cellulare viene "ridotto" al livello molecolare. Quello molecolare viene interpretato in base al sottostante livello atomico, per giungere a quello che per ora sembra essere il livello più semplice e che chiameremo genericamente **livello subatomico**.

Anche se ogni livello è formato dall'ordinata aggregazione ed organizzazione delle strutture che costituiscono il livello sottostante, esso non può mai essere descritto come semplice somma degli elementi più semplici che lo formano. Ciascun livello è infatti caratterizzato da nuove proprietà non descrivibili e soprattutto non prevedibili sulla base delle semplici caratteristiche degli elementi che lo compongono (**proprietà emergenti**).

Così la molecola d'acqua (livello molecolare) presenta caratteristiche totalmente nuove e diverse rispetto a quelle degli atomi di Idrogeno e di Ossigeno (livello atomico) che la compongono.

Ma forse la caratteristica più spettacolare che compare a livello cellulare e che non è nemmeno lontanamente immaginabile studiando il sottostante livello molecolare è ciò che noi chiamiamo **vita**.

E' quindi probabilmente illusorio sperare di spiegare che cos'è la vita studiando le molecole, i composti chimici di cui è fatta una cellula. Ce lo conferma, se ce ne fosse bisogno, il fatto che, dopo aver smontato una cellula nei composti chimici che la costituiscono, non siamo più in grado di ricostruirla.

Nonostante ciò l'approccio riduzionistico e analitico ci ha comunque permesso di allargare enormemente le nostre conoscenze sui meccanismi e le strutture che stanno alla base di un essere vivente. Tanto che oggi è impossibile iniziare lo studio della biologia in generale e della

citologia in particolare senza affrontare preliminarmente gli elementi fondamentale della chimica della vita.

1 Elementi di biochimica

Le innumerevoli sostanze chimiche che costituiscono tutti gli oggetti, naturali e artificiali che compongono l'universo sono a loro volta costituite dalla combinazione di 92 tipi di atomi diversi.

Il termine atomo significa indivisibile e fu coniato dal filosofo greco Democrito per indicare l'esistenza in natura di particelle elementari, non ulteriormente divisibili.

In realtà i 92 tipi di materia che costituiscono l'universo non sono atomi in senso etimologico poiché, come vedremo, possono essere ulteriormente spezzati in particelle più piccole. Il termine è comunque entrato stabilmente nella terminologia scientifica.

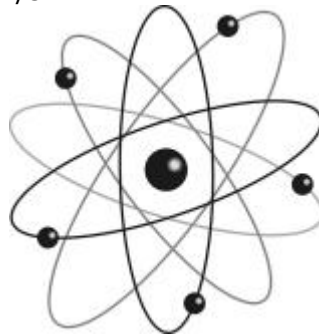
1.1 Struttura atomica

Tutti gli atomi sono formati da 3 tipi di particelle più piccole (**particelle subatomiche**):

- Il **protone** il quale possiede la più piccola quantità di carica positiva finora osservata in natura ($1,6 \cdot 10^{-19}$ coulomb) e massa pari a $1,67 \cdot 10^{-24}$ g.
- Il **neutrone** il quale non possiede carica elettrica e presenta una massa dello stesso ordine di grandezza del protone.
- l'**elettrone** il quale possiede la più piccola quantità di carica elettrica negativa finora osservata, pari ma di segno opposto a quella del protone. L'elettrone presenta una massa circa 2000 volte inferiore rispetto a quella di un protone ($1/1836$).

Ricordiamo che cariche dello stesso segno si respingono, mentre cariche di segno contrario si attraggono.

Gli atomi sono costituiti da una massiccia parte centrale positiva, formata da protoni e neutroni, detta **nucleo**, e da una nuvola di elettroni che orbitano a grandi distanze dal nucleo a velocità enormi dell'ordine di 10^8 km/s.



Si noti come non sempre la misura precisa di una grandezza fisica sia interessante. A volte è sufficiente conoscere il suo **ordine di grandezza**. In tal caso è necessario esprimere le sue dimensioni come una potenza di 10 (notazione esponenziale). Il confronto tra ordini di grandezza è più significativo ed immediato, essendo sufficiente eseguire la differenza tra gli esponenti del 10.

Ad esempio, se vogliamo avere un'idea delle proporzioni di un atomo, possiamo confrontare le sue dimensioni con quelle del suo nucleo. Dunque praticamente tutta la massa dell'atomo è concentrata nel suo nucleo, in una regione delle dimensioni dell'ordine di 10^{-13} cm.

Ma il volume dell'atomo è costituito dalle orbite elettroniche, le quali danno all'atomo una dimensione totale dell'ordine di 10^{-8} cm (1 ångstrom), 5 ordini di grandezza superiore a quelle del nucleo ($13-8=5$).

Per renderci conto della distanza esistente tra nucleo ed elettroni, basti pensare che se il nucleo avesse un diametro di 1 cm, gli elettroni dovrebbero girare ad una distanza $10^5 = 100.000$ volte maggiore, pari a 100.000 cm = 1 km. In tal modo possiamo affermare che la

materia comune é formata più di vuoti che di pieni, una specie di colabrodo la cui apparenza di solidità é legata al moto vorticoso degli elettroni (un po' come un'elica di un aereo che, girando, ci appare come un muro impenetrabile).

Normalmente un atomo possiede tanti elettroni quanti protoni, per cui, complessivamente, esso risulta neutro.

Gli atomi si legano tra loro a formare i diversi composti chimici rimanendo a contatto con la superficie del guscio elettronico (i gusci elettronici non permettono infatti agli atomi di avvicinarsi oltre una certa distanza in virtù della repulsione elettrostatica esistente tra cariche dello stesso segno).

Cosa distingue dunque i 92 tipi di atomi tra loro, dato che sono costituiti tutti di protoni, neutroni ed elettroni? Cosa rende un atomo di Ferro diverso da un atomo di Oro?

La risposta é il numero di protoni. Tale numero é una specie di carta di identità per l'atomo e viene chiamato **numero atomico Z** (dal tedesco Zahl = numero).

Un atomo con 6 protoni é solo ed esclusivamente l'atomo di Carbonio (simbolo chimico C).
Un atomo con 8 protoni é solo l'atomo di Ossigeno (simbolo chimico O).

1.2 Elementi e composti

I 92 atomi possiedono un numero di protoni che va da 1 (per l'Idrogeno H) fino a 92 (per l'Uranio U). I 92 tipi di atomi corrispondono ad altrettanti **elementi** diversi. Il termine "elemento" indica una sostanza materiale "non composta" da sostanze più semplici. Così l'acqua non é un elemento, ma un **composto**, essendo costituita da due sostanze semplici o elementari: l'idrogeno (2 atomi) e l'ossigeno (1 atomo).

Il numero atomico (Z) viene posto in basso a sinistra del simbolo dell'elemento. Ad esempio ${}_6\text{C}$ indica che il carbonio ha numero atomico 6 e contiene quindi 6 protoni nel nucleo.

In modo analogo, con un numero posto in alto a sinistra del simbolo dell'elemento si indica il numero di massa (A), che é dato dalla somma del numero di protoni (Z) e di neutroni (N) contenuti nel nucleo. Il simbolo ${}^{12}_6\text{C}$ (carbonio sei-dodici) ci informa che l'atomo di carbonio possiede 6 protoni e 6 neutroni ($N = A - Z = 12 - 6$).

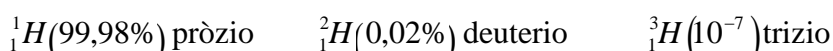
1.3 Isotopi e decadimenti

Gli elementi che hanno lo stesso numero atomico, ma diverso numero di massa si dicono **isotopi**. Un particolare isotopo di un elemento si indica in genere utilizzando solo il numero di massa, dando per sottinteso il numero atomico. Così ${}^{14}\text{C}$ (carbonio quattordici) indica l'isotopo del carbonio che contiene 8 neutroni, anziché i 6 dell'isotopo più stabile, che é appunto il ${}^{12}\text{C}$ (carbonio dodici).

Negli elementi con numero atomico piccolo ($Z < 20$), il numero dei neutroni nell'isotopo più stabile é generalmente uguale a quello dei protoni o vi differisce per una unità in eccesso. Al crescere di Z, il rapporto fra N e Z aumenta progressivamente. É probabile che i neutroni abbiano un ruolo importante nel dare stabilità ai nuclei. Mentre ad esempio il Carbonio possiede 6 p e 6 n, l'Ossigeno 8 p e 8 n, il Ferro presenta 26 p e 30 n, mentre l'Uranio 92 p e 146 n.

I nuclei degli elementi più pesanti sono in genere instabili e tendono a decadere emettendo particelle per raggiungere una condizione di maggior stabilità nucleare. É stato osservato che i nuclei con valori pari di Z e N sono più stabili di quelli con valori dispari.

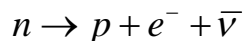
La maggior parte degli elementi é presente in natura sottoforma di miscele di isotopi. Ad esempio il gas Idrogeno H_2 é costituito da una miscela di 3 isotopi



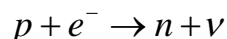
Alcuni isotopi sono instabili, sono cioè soggetti a decadimento radioattivo (**radioisotopi**). Il decadimento radioattivo comporta l'emissione di particelle energetiche con trasformazione degli isotopi instabili in isotopi di elementi diversi.

Vi sono due tipi fondamentali di decadimenti: alfa e beta.

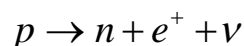
1) **decadimento β (beta)**: un neutrone del nucleo si trasforma in un protone (che rimane nel nucleo, aumentando di un'unità il numero atomico e quindi trasformando l'elemento in quello che lo segue nella tabella periodica), e in un elettrone ed un antineutrino (che si allontanano dal nucleo ad elevata velocità).



Nel **decadimento β inverso** un protone del nucleo, colpito da un elettrone, si trasforma in un neutrone (che rimane nel nucleo, diminuendo di un'unità il numero atomico e quindi trasformando l'elemento in quello che lo precede nella tabella periodica) e in un neutrino (che si allontana dal nucleo).



Una reazione equivalente prevede che un protone emetta un positrone (l'antiparticella dell'elettrone) ed un neutrino trasformandosi in un neutrone, che rimane nel nucleo.



2) **decadimento α (alfa)**: il nucleo di un isotopo espelle un nucleo di Elio (2 protoni + 2 neutroni) o particella α (diminuendo di due unità il proprio numero atomico e trasformandosi nell'elemento che lo precede di due posti nella tabella periodica).

Molti radioisotopi hanno un'interesse rilevante nella ricerca scientifica.

Un'applicazione notevole si ha nella datazione di rocce e fossili. Il metodo si basa sull'osservazione che ciascun radioisotopo impiega un tempo ben determinato per trasformarsi, in genere attraverso una lunga serie di elementi intermedi instabili, in un isotopo stabile. Tutti gli isotopi radioattivi decadono obbedendo alla stessa **legge di decadimento**:

$$N_t = N_0 \cdot e^{-\lambda t}$$

dove

N_0 = numero di atomi iniziali

N_t = numero di atomi residui (che non hanno ancora subito il decadimento) dopo un tempo t

λ = costante di decadimento (diversa da elemento ad elemento)

t = tempo

Ponendo $N_t = \frac{N_0}{2}$ è possibile determinare il cosiddetto **tempo di dimezzamento** ($T_{1/2}$) o di

semitrasformazione o **emivita**, cioè il tempo necessario affinché decadano metà degli atomi iniziali. La legge di decadimento diventa

$$\frac{N_0}{2} = N_0 \cdot e^{-\lambda T_{1/2}}$$

ed il tempo di dimezzamento

$$T_{1/2} = \frac{\log_e 2}{\lambda} = \frac{0,69315}{\lambda}$$

I fisici hanno determinato con grande accuratezza il **tempo di dimezzamento** dei radioisotopi.

isotopo instabile	decadimento	isotopo stabile	tempo di dimezz. (in anni)
$({}^{238}_{92}\text{U})$ Uranio - 238	8α e 6β	$({}^{206}_{82}\text{Pb})$ Piombo - 206	4,51 miliardi

$(^{235}_{92}\text{U})$ Uranio - 235	7α e 4β	$(^{207}_{82}\text{Pb})$ Piombo - 207	713 milioni
$(^{232}_{90}\text{Th})$ Torio - 232	6α e 4β	$(^{208}_{82}\text{Pb})$ Piombo - 208	13,9 miliardi
$(^{40}_{19}\text{K})$ Potassio - 40	β inverso	$(^{40}_{18}\text{Ar})$ Argon - 40	1,26 miliardi
$(^{87}_{37}\text{Rb})$ Rubidio - 87	β	$(^{87}_{38}\text{Sr})$ Stronzio - 87	50 miliardi
$(^{14}_6\text{C})$ Carbonio - 14	β	$(^{14}_7\text{N})$ Azoto - 14	5.730

L'attività di una sostanza radioattiva si misura in *curie*.

1 *curie* = $3,7 \cdot 10^{10}$ decadimenti α o β al secondo.

Misurando dunque la percentuale di un certo isotopo e quella dei suoi prodotti di decadimento presenti in una roccia è possibile risalire alla sua età.

Se infatti chiamiamo G la quantità dell'isotopo genitore residuo e F la quantità dell'isotopo figlio che si è formato, la legge di decadimento può essere scritta

$$G = (G + F) \cdot e^{-\lambda t}$$

e poiché la costante di decadimento vale

$$\lambda = \frac{\log_e 2}{T_{1/2}}$$

sostituendo, otteniamo

$$t = \frac{T_{1/2}}{0,69315} \cdot \log_e \left(1 + \frac{F}{G} \right)$$

E' evidente dunque che per conoscere l'età t di una roccia è sufficiente conoscere il tempo di dimezzamento di un certo radioisotopo e misurare il rapporto isotopico tra elemento figlio ed elemento genitore che rappresenta una specie di memoria della storia chimica della roccia.

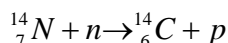
Per datare rocce molto antiche si utilizza in genere il **metodo Rubidio-Stronzio**, mentre per rocce aventi un'età compresa tra 200.000 e 1 miliardo di anni è preferibile il **metodo Potassio-Argon**.

Se ad esempio in una roccia misuriamo un rapporto isotopico $\frac{{}^{40}\text{Ar}}{{}^{40}\text{K}} = 0,21$, l'età della roccia potrà essere calcolata in

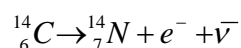
$$t = \frac{T_{1/2}}{0,69315} \cdot \log_e \left(1 + \frac{F}{G} \right) = \frac{1,3 \cdot 10^9}{0,69315} \cdot \log_e (1 + 0,21) \cong 360 \text{ milioni di anni}$$

Per la datazione di resti organici si utilizza il **metodo del Carbonio-14**.

Il carbonio 14 si produce continuamente nell'alta atmosfera per interazione dei gas atmosferici con i raggi cosmici. Da tali interazioni si producono neutroni liberi (per disintegrazione di nuclei gassosi) che possono al loro volta reagire con nuclei di azoto atmosferico, secondo la reazione



Il Carbonio-14, una volta formatosi, decade nuovamente in Azoto-14 ($T_{1/2} = 5730$ anni), emettendo un elettrone ed un antineutrino



La velocità delle due reazioni è tale per cui la quantità di Carbonio-14 presente nell'atmosfera rimane costante ed il rapporto Carbonio-12/Carbonio-14 presenta un valore ben definito, pari a

$$\frac{{}^{14}_6\text{C}}{{}^{12}_6\text{C}} = 1,274 \cdot 10^{-12}$$

circa 1 atomo di C-14 ogni 1000 miliardi di atomi di C-12.

Il valore di tale rapporto si mantiene inalterato anche durante i processi di fissazione fotosintetica della CO_2 da parte dei vegetali ed in generale di assimilazione da parte degli organismi che direttamente o indirettamente si nutrono di vegetali. In altre parole finché un qualsiasi organismo animale o vegetale è vivo esso risulta in equilibrio con l'ambiente e quindi

al suo interno il rapporto $\frac{{}^{14}_6\text{C}}{{}^{12}_6\text{C}}$ si mantiene costante. Dal momento in cui un organismo muore l'assunzione di C-14 cessa, mentre il suo decadimento in N-14 prosegue.

E' allora evidente che la misurazione del rapporto $\frac{{}^{14}_6\text{C}}{{}^{12}_6\text{C}}$ all'interno di un reperto organico ci permette di risalire alla data della sua morte.

Tenuto comunque conto della relativa brevità del tempo di dimezzamento del C-14, tale metodo non permette di datare fossili più vecchi di circa 50-70.000 anni.

In campo medico e biologico molte vie metaboliche sono state scoperte utilizzando composti "marcati" con radioisotopi, seguendone poi il destino attraverso complicate sequenze di reazioni all'interno dell'organismo. Se infatti mettiamo a disposizione dell'organismo isotopi radioattivi dell'Ossigeno, dell'Azoto o del Carbonio, questi, possedendo le medesime caratteristiche chimiche dei rispettivi isotopi stabili, vengono normalmente assimilati ed utilizzati nella sintesi delle sostanze necessarie. Tali sostanze risultano a questo punto radioattive e quindi facilmente localizzabili ed isolabili.

Sempre in campo medico le radiazioni emesse dalla disintegrazione del Cobalto-60 (${}^{60}_{27}\text{Co}$) vengono utilizzate per distruggere le cellule tumorali (cobaltoterapia). D'altra parte alcuni radioisotopi che si formano durante le esplosioni nucleari, possono accumularsi nell'organismo provocando danni. Ad esempio lo Stronzio-90 (${}^{90}_{38}\text{Sr}$) essendo chimicamente affine al Calcio (appartiene allo stesso gruppo chimico) può essere utilizzato dall'organismo al posto di quest'ultimo all'interno del tessuto osseo, provocando l'insorgenza di forme tumorali, specialmente negli organismi in fase di crescita. Inoltre il suo tempo di dimezzamento è di circa 28 anni, sufficientemente lungo per concentrarsi pericolosamente nell'ambiente ed essere assorbito dagli esseri viventi.

1.4 La tabella periodica

I 92 tipi di atomi o elementi sono stati ordinati in una tabella in ordine di numero atomico crescente, dal più leggero, l'Idrogeno, al più pesante, l'Uranio (il peso atomico dipende essenzialmente dal numero totale dei protoni e dei neutroni (**nucleoni**) che si trovano nel nucleo e quindi dal numero atomico).

La tabella è stata impostata verso la metà dell'Ottocento (1869) dal chimico russo Mendeleev (il quale inizialmente ordinò gli elementi secondo il peso atomico crescente).

Mendeleev si accorse che, passando da elementi più leggeri ad elementi a più elevato peso atomico, le caratteristiche chimiche già incontrate in precedenza si ripresentavano periodicamente negli elementi più pesanti.

Mendeleev sistemò allora gli elementi in una tabella formata da un certo numero di righe e di colonne, in modo tale che gli elementi che presentavano proprietà simili si incolonnassero.

Spostandosi lungo una linea orizzontale (**periodo**) il numero atomico cresce di una unità per volta e le proprietà chimiche variano con continuità.

Scendendo lungo una colonna (**gruppo**) il numero atomico cresce di parecchie unità per volta, ma le proprietà chimiche rimangono praticamente costanti.

E' un po' come sistemare un mazzo di carte mettendo tutte le carte di uno stesso seme, dalla più piccola alla più grande, su quattro righe orizzontali, in modo tale che gli assi si incolonnino con gli assi, i due con i due e così via.

GRUPPO																		0	
IA																		IIA	
PERIODO	1	2																	10
	1	2																	10
	3	4																	10
	11	12																	10
	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	10
	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	10
	55	56	57	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	10
	87	88	89	104	105	106	107	108	109	110	111	112							10
	(223)	(226.02)	(227.03)	(261)	(262)	(263)	(262)	(265)	(266)	(269)	(272)	(277)							10

58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71
Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu
140.12	140.91	144.24	(145)	150.4	151.97	157.25	158.93	162.50	164.93	167.26	168.93	173.04	174.97

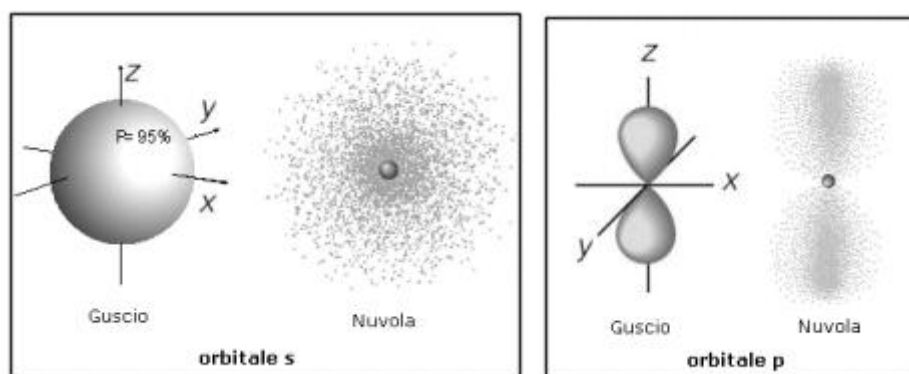
90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103
Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No	Lr
232.04	231.04	238.03	237.05	(244)	(243)	(247)	(247)	(251)	(252)	(257)	(258)	(259)	(260)

La somiglianza chimica tra elementi appartenenti ad un medesimo gruppo é dovuta al tipo di distribuzione degli elettroni attorno al nucleo.

1.5 Livelli energetici ed orbitali

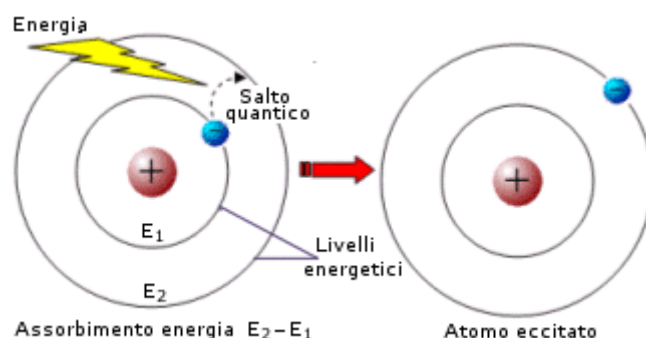
Gli elettroni orbitano intorno al nucleo secondo schemi particolari, scoperti solamente nella prima metà del Novecento. Inizialmente si riteneva che gli elettroni percorressero traiettorie definite all'interno di **orbite** circolari ed ellittiche. Successivamente si è scoperto che è impossibile definire con precisione la traiettoria di un elettrone ed il concetto di orbita è stato sostituito dal concetto di orbitale. L'**orbitale** è la regione di spazio intorno al nucleo alla quale si associa una certa probabilità, arbitrariamente fissata (in genere del 90-95%) di trovare l'elettrone. Gli orbitali vengono rappresentati tramite gusci delimitati da superfici chiuse o tramite nuvole sfumate (nuvola elettronica) la cui intensità di colore è proporzionale alla probabilità di trovare l'elettrone. Vi sono 4 tipi di orbitali di forma diversa, indicati con le lettere **s**, **p**, **d**, **f**. Gli orbitali s sono sferici, gli orbitali p sono bilobati, mentre gli orbitali d ed f hanno complesse forme multilobate.

Ogni orbitale può contenere al massimo due elettroni.



Gli elettroni possono sistemarsi solo a certe distanze dal nucleo, formando così una sorta di strati o **gusci elettronici**, a ciascuno dei quali compete una certa energia caratteristica, detta **livello energetico**. I livelli energetici sono **quantizzati**, possono cioè possedere solo certi valori di energia. Ogni livello energetico può contenere solo un certo numero di elettroni, caratteristico del livello. Gli elettroni tendono ad occupare sempre il livello energetico libero più basso (più vicino al nucleo) fino a saturarlo e solo allora si dispongono in livelli energetici più esterni.

Un elettrone può passare da un livello più interno di energia E_i ad uno più esterno libero di energia E_e , solo se gli viene fornita esattamente la quantità di energia $E_e - E_i$. In altre parole se sono quantizzati i livelli energetici, allora sono quantizzate anche le differenze di energia tra i livelli (**dislivelli energetici quantizzati**). Ciò significa che ogni atomo può assorbire solo certe quantità di energia caratteristiche. Come abbiamo appena detto, quando un atomo assorbe energia un elettrone passa da un livello più interno ad uno più esterno (**salto quantico** o transizione elettronica) e l'atomo si viene a trovare in una situazione di instabilità (**stato eccitato**). Quando l'elettrone ritorna al livello energetico di partenza, viene restituita esattamente la medesima quantità di energia assorbita e l'atomo riacquista stabilità (**stato fondamentale**).



Nel primo livello energetico, quello più vicino al nucleo, possono essere ospitati non più di 2 elettroni (vi è solo un orbitale s)

Nel secondo livello energetico altri 2 elettroni come in precedenza più altri 6. Si tratta in realtà di due sottolivelli il primo con 2 elettroni (1 orbitale s) ed il secondo con 6 elettroni (3 orbitali p) per un totale di 8 elettroni.

Nel terzo livello 2 + 6 + 10 elettroni (3 sottolivelli: 1 orbitale s + 3 orbitali p + 5 orbitali d) per un totale di 18 elettroni.

Nel quarto livello 2 + 6 + 10 + 14 elettroni (4 sottolivelli: 1 orbitale s + 3 orbitali p + 5 orbitali d + 7 orbitali f) per un totale di 32 elettroni.

I livelli successivi presentano al massimo 4 sottolivelli. Gli atomi più pesanti, come l'Uranio, hanno elettroni a sufficienza per occupare 7 livelli energetici, senza tuttavia riuscire a riempirli completamente.

Gli atomi utilizzano gli elettroni del loro livello energetico più esterno (**elettroni superficiali** o **elettroni di valenza**) per interagire tra loro. Il tipo di reazioni che possono fare dipende

quindi dal numero di elettroni del loro strato di valenza o, come si usa dire, dalla loro **configurazione elettronica superficiale**. Atomi di elementi diversi che presentino la medesima configurazione elettronica superficiale (il medesimo numero di elettroni sul loro ultimo livello) manifestano quindi caratteristiche chimiche simili.

Così l'**Idrogeno**, il primo e più leggero degli elementi chimici è costituito di 1 protone nel nucleo e di un elettrone nel primo livello energetico.

L'**Elio** con 2 protoni + 2 neutroni nel nucleo e due elettroni orbitanti, satura il primo livello energetico.

Il **Litio**, che possiede 3 protoni, 3 neutroni e tre elettroni, sistema i primi due elettroni nel primo livello, saturandolo, ed è costretto a sistemare il suo terzo elettrone nel secondo livello. per questo motivo viene incolonnato sotto l'Idrogeno. Come l'idrogeno presenta infatti un unico elettrone sul livello energetico più superficiale.

L'elemento successivo, il **Berillio** (Be 4 elettroni), ne sistema 2 nel primo livello e 2 nel secondo.

Il **Boro** (B - 5 elettroni) ne sistema 2 nel primo e 3 nel secondo.

Il **Carbonio** (C - 6 elettroni) ne sistema 2 nel primo e 4 nel secondo.

L'**Azoto** (N - 7 elettroni) 2 nel primo e 5 nel secondo.

L'**Ossigeno** (O - 8 elettroni) 2 nel primo e 6 nel secondo.

il **Fluoro** (F - 9 elettroni) 2 nel primo e 7 nel secondo.

Il **Neon** (Ne - 10 elettroni), con 2 elettroni nel primo e 8 nel secondo, satura il secondo livello energetico. Quando un elemento chimico satura con 8 elettroni i primi due sottolivelli del suo ultimo livello risulta chimicamente stabile. In altre parole non manifesta alcuna tendenza a modificare la sua configurazione elettronica, tramite reazioni chimiche con altri atomi. Il Neon si trova in questa condizione.

Il **Sodio** (Na), che possiede 11 elettroni ne sistema 2 nel primo, 8 nel secondo e 1 nel terzo. Il Sodio viene a possedere così un unico elettrone sul livello energetico più superficiale, come il Litio e l'Idrogeno e viene perciò incolonnato sotto di essi.

Il **Magnesio** (Mg) che possiede 12 elettroni ne sistema 2 nel primo livello, 8 nel secondo e 2 nel terzo. Possedendo 2 elettroni sul livello energetico più esterno, come il Berillio viene incolonnato sotto di esso.

Sotto il Magnesio, incolonnato nel suo stesso gruppo, troviamo il **Calcio** che dopo aver saturato di elettroni i primi tre livelli, presenta 2 elettroni nel quarto livello, quello più esterno e quindi presenta la stessa configurazione elettronica superficiale del Berillio e del Magnesio.

Tutti i successivi elementi si troveranno dunque incolonnati in modo tale da far parte di un gruppo di elementi i quali possiedono tutti uno stesso numero di elettroni sul livello energetico più superficiale. Naturalmente il livello energetico sarà diverso da elemento a elemento.

Dunque le caratteristiche simili degli elementi che appartengono ad uno stesso gruppo chimico dipendono essenzialmente dal numero di elettroni presenti sul livello energetico più superficiale, indipendentemente dal fatto che questo sia il primo, il secondo o l'ultimo.

Gli elementi del I gruppo A hanno tutti 1 elettrone superficiale

Gli elementi del II gruppo A hanno tutti 2 elettroni superficiali

Gli elementi del III gruppo A hanno tutti 3 elettroni superficiali

E così via fino agli elementi del gruppo 0 (zero) che, avendo 8 elettroni superficiali, sono tutti stabili (gas nobili)

Come abbiamo già detto, gli atomi reagiscono tra loro utilizzando gli elettroni più superficiali, mentre gli elettroni interni non partecipano in genere alle reazioni chimiche. Inoltre gli elementi che, come il Neon, possiedono 8 elettroni superficiali (1 orbitale s e 3 orbitali p saturi) risultano particolarmente stabili, inerti, nel senso che hanno pochissima tendenza a reagire con altri elementi chimici.

Gli altri elementi che possiedono configurazioni elettroniche simili a quella dei gas nobili tendono a perdere o ad acquistare elettroni per acquisire tale configurazione particolarmente stabile. Vedremo che molte reazioni chimiche possono essere spiegate proprio in virtù della tendenza di molti elementi ad acquisire la configurazione ad 8 elettroni superficiali dei gas nobili (**regola dell'ottetto**).

1.6 Simbologia chimica

Ogni elemento chimico viene convenzionalmente indicato con un **simbolo chimico** di una o due lettere, di cui la prima maiuscola.

Quando due o più atomi si uniscono si parla di **molecola**. Se una molecola è formata da atomi dello stesso elemento si parla di **sostanza semplice** o **elementare**.

Fe	O ₂	H ₂	Au	N ₂	S ₈
ferro	ossigeno	idrogeno	oro	azoto	zolfo

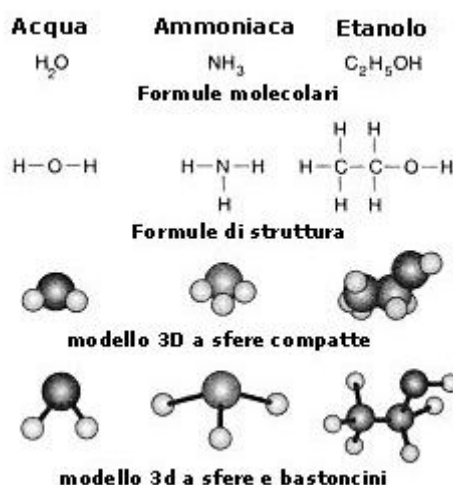
L'**indice** posto in basso a destra indica il numero di atomi legati a formare una molecola. Quando non è presente è sottinteso l'indice 1.

Se una molecola è formata da atomi di elementi diversi si parla di **sostanza composta** o, più semplicemente, di **composto**.

H ₂ O	CO ₂	NH ₃	CH ₄	H ₃ PO ₄
acqua	anidride carbonica	ammoniaca	metano	acido fosforico

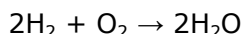
Le formule chimiche fin qui usate si dicono **formule brute o grezze**. Esse ci informano solo sul numero di atomi di ciascun elemento che entrano a far parte di una sostanza, ma non dicono nulla sul modo in cui gli atomi si legano tra loro.

Le formule che utilizzano delle barrette per evidenziare il legame chimico tra gli atomi sono dette **formule di struttura**. Esistono poi delle rappresentazioni tridimensionali (3D) che permettono di evidenziare la disposizione degli atomi nello spazio.



Quando si scrive una reazione chimica le sostanze che reagiscono (**reagenti**) vengono separate dalle sostanze che si formano (**prodotti di reazione**) dal segno di reazione (→).

Sia i reagenti che i prodotti di reazione sono preceduti da un numero, detto **coefficiente stechiometrico**, che indica il numero di molecole che partecipa alla reazione. Il coefficiente 1 è sottinteso.



Due molecole di idrogeno (biatomico) reagiscono con una molecola di ossigeno (biatomico) per dare due molecole di acqua. Una reazione in cui compaiano i corretti coefficienti stechiometrici si dice "**bilanciata**".

I coefficienti stechiometrici sono necessari al fine di soddisfare il principio di conservazione della massa. Durante la reazione infatti non si possono creare e non possono sparire atomi. Il numero di atomi di un elemento che si trova tra i reagenti deve sempre essere uguale al numero di atomi dello stesso elemento che si trova tra i prodotti di reazione.

Una reazione bilanciata è corretta non solo dal punto di vista qualitativo, ma anche da quello quantitativo e ci fornisce dunque informazioni sui rapporti con cui le sostanze reagiscono.

1.7 Il peso (massa) degli atomi e delle molecole

Il numero di massa A non deve essere confuso con la massa effettiva di un elemento, in quanto, come abbiamo visto, ogni elemento è costituito da miscele di isotopi e quindi la sua è la massa media degli isotopi che lo compongono. Per indicare le masse degli atomi (o dei composti chimici) sarebbe scomodo usare l'unità di misura ordinaria della massa, il kg o il g. Per questo motivo si utilizza una unità di misura relativa, prendendo come riferimento la massa del ^{12}C .

Il **dalton** o **unità di massa atomica (uma o u)** viene definito come $1/12$ (un dodicesimo) della massa del C-12 ed è pari a $1,6605 \cdot 10^{-24}$ g.

Si definisce peso atomico (o molecolare) relativo il rapporto tra la massa di un atomo (o di una molecola) e $1/12$ della massa del Carbonio-12. Il peso risulta quindi essere "relativo" alla massa del C-12, presa arbitrariamente e convenzionalmente come unità di misura.

Così quando affermiamo che l'Ossigeno ha un peso atomico relativo di 16 dalton (o uma o u) ciò significa che esso pesa 16 volte più di $1/12$ del C-12.

Il termine "peso" andrebbe più correttamente sostituito con il termine "massa", ma è ormai entrato nell'usuale terminologia chimica.

I pesi atomici relativi sono tabulati nella tabella periodica. Per calcolare i pesi molecolari relativi è sufficiente sommare i pesi atomici relativi di tutti gli atomi presenti in una molecola. Ad esempio sapendo che l'Ossigeno pesa 16 u e l'Idrogeno 1 u, una molecola d'acqua H_2O peserà 18 u ($1 + 1 + 16$), mentre una molecola di anidride carbonica CO_2 peserà 44 u ($12 + 16 + 16$).

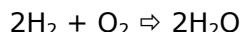
Un'altra unità di misura, usata per esprimere quantità macroscopiche di materia, è la **mole**.

1 mole di una sostanza è pari al suo peso relativo espresso in grammi.

Così una mole di ossigeno gassoso O_2 è pari a 32 g di ossigeno (il peso relativo è $16 + 16 = 32$ u). 1 mole di acqua è pari a 18 g di acqua, 1 mole di anidride carbonica è pari a 44 g di anidride carbonica.

Una mole di una qualsiasi sostanza ha la proprietà notevole di contenere sempre lo stesso numero di particelle, detto **numero di Avogadro**, pari a $6,022 \cdot 10^{23}$. Così 32 g di ossigeno e 44 g di anidride carbonica contengono sempre un numero di Avogadro di molecole.

Tale proprietà è fondamentale nelle reazioni chimiche. Prendiamo ad esempio la reazione di sintesi dell'acqua dai suoi elementi



I coefficienti stechiometrici mi informano che l'idrogeno e l'ossigeno reagiscono nel rapporto numerico (molecolare) di 2:1. In altre parole, per ogni due molecole di idrogeno che reagiscono con una molecola di ossigeno si ottengono due molecole di acqua.

Ma potremo anche affermare che due moli di idrogeno (4 g) reagiscono con una mole di ossigeno (32 g) per dare 2 moli di acqua (36 g). E ciò perché 2 moli di idrogeno contengono esattamente il doppio di molecole di 1 mole di ossigeno e quindi utilizzando le moli il rapporto molecolare di 2:1 viene comunque rispettato.

Il vantaggio sta nel fatto che ora possiamo misurare e far reagire quantità macroscopiche e facilmente misurabili di materia (4 g di idrogeno e 32 g di ossigeno).

1.8 Il legame chimico

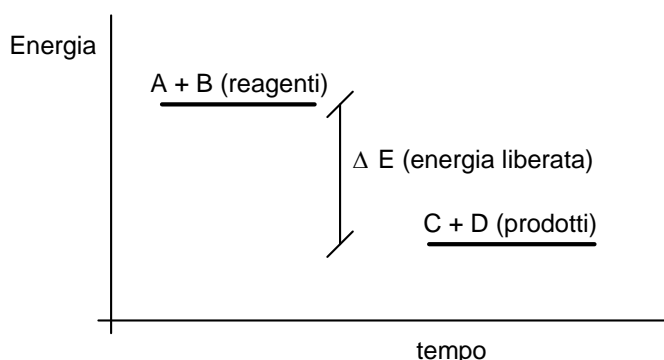
La vita di una cellula dipende in larga misura dalla sua capacità di immagazzinare ed utilizzare energia. L'unico modo che la cellula possiede per immagazzinare energia è quella di fissarla all'interno dei legami chimici che tengono uniti gli atomi nelle molecole.

E' infatti attraverso una continua rottura e ricostruzione dei legami chimici e quindi attraverso un lavoro ininterrotto di demolizione e di riassettraggio di molecole (metabolismo cellulare) che la cellula fa circolare l'energia al suo interno.

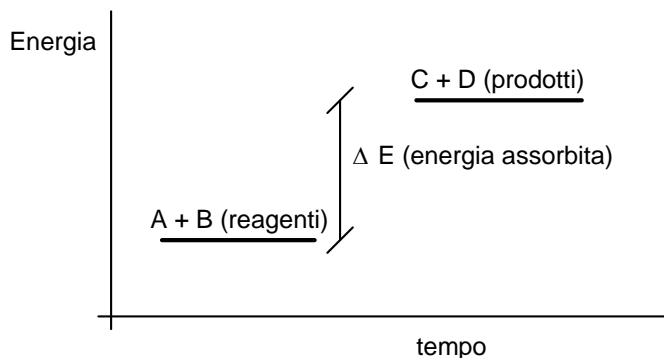
Una delle caratteristiche importanti di ogni legame chimico è dunque proprio il suo contenuto energetico, comunemente (anche se impropriamente) detto **forza di legame**.

Durante una reazione chimica vengono rotti alcuni legami dei reagenti, mentre si formano altri legami necessari per la sintesi dei prodotti di reazione.

Una reazione avviene con liberazione di energia (**reazione esoergonica**) se i legami che si spezzano sono più energetici dei legami che si formano. In tal caso possiamo affermare che i reagenti sono più energetici dei prodotti di reazione.



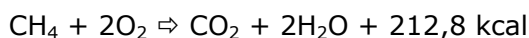
Se al contrario una reazione avviene con assorbimento di energia (**reazione endoergonica**) e i legami che si spezzano sono meno energetici dei legami che si formano, allora possiamo affermare che i reagenti sono meno energetici dei prodotti di reazione.



Le variazioni energetiche (ΔE) associate alla rottura ed alla formazione dei legami chimici si misurano normalmente in **chilocalorie su mole** (kcal/mol) o **chilojoule su mole** (kJ/mol)

Ricordiamo che una caloria è la quantità di calore necessaria per far aumentare la temperatura di 1 g di acqua, portandola da 14,5°C a 15,5°C e che 1 cal = 4,186 J

Un esempio di *reazione esoergonica* è la combustione del metano in presenza di ossigeno.



Ogni mole di metano (16 g) che brucia libera dunque 212,8 Kcal

Un esempio di *reazione endoergonica* è la scissione dell'acqua in idrogeno ed ossigeno



Per spezzare una mole di acqua (18 g) è necessario dunque fornire 68,3 Kcal.

Come si è già avuto modo di dire la reattività di un elemento chimico dipende essenzialmente dalla sua configurazione elettronica superficiale, tanto che gli elettroni che si trovano nel livello energetico più esterno sono spesso detti **elettroni di legame**.

Esistono 2 modi fondamentali attraverso cui un atomo può utilizzare tali elettroni per legarsi con un altro atomo, dando luogo ad altrettanti tipi di legami: il **legame ionico** ed il **legame covalente**.

Poichè, come abbiamo già detto, gli elettroni coinvolti nei legami chimici sono quelli che occupano il livello energetico più superficiale (elettroni di valenza), introduciamo un metodo semplice per rappresentare i primi 8 elettroni, noto come **configurazione di Lewis** degli elementi.

Secondo tale metodo i 2 + 6 elettroni dei primi due sottolivelli (1 orbitale s e 3 orbitali p) del livello più esterno vengono rappresentati come punti o coppie di punti disposte ai quattro lati del simbolo chimico dell'elemento. Ogni lato rappresenta un orbitale e può contenere al massimo 2 elettroni. Per maggior chiarezza diamo la configurazione di Lewis degli elementi appartenenti al 3° periodo.



Le coppie di elettroni vengono più spesso rappresentate con una barretta.

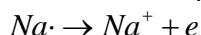
1.8.1 Legame ionico

Prendiamo in considerazione un elemento appartenente al primo gruppo, ad esempio il Sodio (Na). Il Sodio ha numero atomico $Z = 11$ e quindi oltre a possedere 11 protoni possiede 11 elettroni. Gli 11 elettroni sono sistemati: 2 a saturare il primo livello energetico; 2 + 6 = 8 a saturare il secondo livello energetico; 1 elettrone inizia il riempimento del terzo livello energetico.

Si noti che il Sodio presenta un elettrone in più rispetto al gas nobile che lo precede nella tabella periodica, il Neon. Come sappiamo la configurazione dei gas nobili è particolarmente stabile (regola dell'ottetto) ed il Sodio tenderà dunque a liberarsi del suo elettrone superficiale per assumere la configurazione elettronica stabile del Neon.

In tal modo però viene "scoperta" una carica positiva del nucleo. Infatti il Sodio viene ad avere 11 protoni e 10 elettroni.

Il Sodio si trasforma in un atomo con una carica netta positiva o **ione positivo** Na^+



Si dicono **ioni** gli atomi elettricamente carichi, positivamente o negativamente. Uno ione positivo o **catione** si forma per perdita di uno o più elettroni.

Allo stesso modo il Calcio (Ca), che appartiene al secondo gruppo, presenta 2 elettroni in più del gas nobile che lo precede, l'Argon. Il Calcio ha un'elevata tendenza a perdere questi due elettroni per raggiungere la configurazione elettronica stabile dell'Argon.

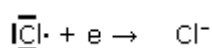
In questo modo si trasforma in un catione con due cariche positive Ca^{++} o, il che è lo stesso, Ca^{2+} (calcio due più).

Prendiamo in considerazione ora un elemento del settimo gruppo come il Cloro con $Z = 17$.

Il Cloro sistema i suoi 17 elettroni: 2 nel 1° livello (saturandolo), 8 nel 2° livello (saturandolo) ed i rimanenti 7 nel 3° livello.

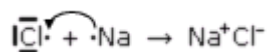
Al Cloro manca un solo elettrone per raggiungere la configurazione stabile (8 elettroni) del gas nobile che lo segue (Ar) nella tabella periodica, l'Argon. Per il Cloro è infatti più semplice (energeticamente più vantaggioso) acquistare un elettrone, piuttosto che perderne 7 per raggiungere la configurazione del gas nobile che lo precede (Ne).

Acquistando 1 elettrone il Cloro si trasforma in uno **ione negativo** Cl^- . Con un elettrone in più infatti il Cloro viene a possedere 18 elettroni contro i 17 protoni del suo nucleo, evidenziando in tal modo una carica netta negativa.

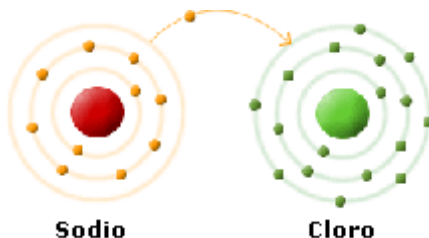


Gli ioni negativi o **anioni** sono atomi che hanno acquistato uno o più elettroni.

Se dunque noi avviciniamo del Cloro gassoso Cl_2 e del Sodio metallico Na, assisteremo ad una violenta reazione esoergonica. Il Sodio, che presenta una elevata tendenza a liberarsi del suo elettrone, lo cede al Cloro che presenta da parte sua una grande tendenza ad acquistarlo.



Ma lo ione Sodio Na^+ e lo ione Cloro Cl^- non rimangono a questo punto separati. Presentando due cariche di segno opposto essi si attirano formando una molecola, complessivamente neutra, la cui formula bruta è NaCl, il Cloruro di Sodio.

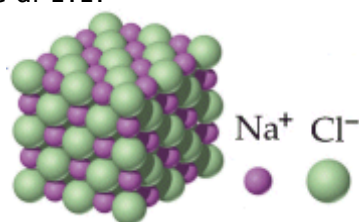


Si è dunque formato un legame chimico di tipo elettrostatico tra ioni aventi carica opposta: il **legame ionico**. I composti che presentano questo tipo di legame si dicono **composti ionici**. Dire che entrambi gli atomi raggiungono in tal modo una configurazione più stabile significa affermare che diminuiscono il loro contenuto energetico. L'energia si libera in genere sotto forma di calore di reazione.



In realtà non esiste una singola molecola di Cloruro di Sodio, come abitualmente e convenzionalmente si scrive. Infatti l'attrazione tra cariche di segno opposto, come sono cationi e anioni, non si sviluppa solo in un'unica direzione, ma agisce uniformemente in tutte le direzioni (con simmetria sferica). Uno ione Na^+ risulta infatti circondato da 6 ioni Cl^- e viceversa., formando uno sconfinato reticolo cubico, in cui ioni di carica opposta si alternano ordinatamente nelle tre direzioni dello spazio. Tale disposizione ordinata è detta **cristallina**, poichè genera macroscopicamente un cristallo che conserva la geometria della sottostante struttura atomica.

Nei composti ionici quindi la formula bruta non descrive una struttura molecolare autonoma, ma indica il rapporto numerico esistente nel cristallo tra ioni positivi e negativi. Nel caso del Cloruro di Sodio, ad esempio, la formula bruta NaCl ci informa che il rapporto numerico tra ioni Na^+ e Cl^- all'interno del reticolo è di 1:1.



Se la reazione fosse avvenuta tra il Calcio ed il Cloro, il Calcio avrebbe ceduto due elettroni a 2 atomi di Cloro, ciascuno dei quali avrebbe acquistato un elettrone.

In tal caso affinché il reticolo ionico sia nel complesso neutro è necessario che per ciascun ione Ca^{2+} siano presenti 2 ioni Cl^- .

La formula CaCl_2 indica dunque che nel reticolo cristallino del Cloruro di Calcio il rapporto tra ioni Calcio e ioni Cloro è 2:1.

Le sostanze ioniche, poste in acqua si dissociano negli ioni costituenti.

In acqua quindi le sostanze ioniche non sono presenti come molecole, ma come ioni.

In tutte le soluzioni acquose che costituiscono gli esseri viventi e nelle cellule in particolare, si trovano ioni di interesse biologico quali appunto: K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- etc.

1.8.2 Legame covalente

In generale gli ultimi elementi di ciascun periodo hanno tutti una grande tendenza ad acquistare elettroni, mentre i primi elementi di ciascun periodo presentano una forte tendenza

a perdere elettroni. Quando atomi di questo tipo interagiscono tendono a scambiarsi elettroni per formare legami ionici.

Ma come possiamo spiegare il legame esistente tra due atomi che, trovandosi alla fine di un periodo hanno entrambi una forte tendenza ad acquistare elettroni? Come spieghiamo ad esempio il legame che tiene uniti due atomi di Cloro nella molecola biatomica Cl_2 ?

Quando due atomi di Cloro si avvicinano ciascuno dei due tende a strappare l'elettrone all'altro, senza peraltro riuscirci.



Ma l'attrazione reciproca di ciascun nucleo sull'elettrone dell'altro atomo agisce come una forza di legame che mantiene i due atomi uniti. I due atomi di Cloro "condividono" una coppia di elettroni e tale "condivisione" costituisce il legame covalente. La condivisione avviene tramite sovrapposizione e "fusione" dei due **orbitali atomici** che contengono ciascuno un singolo elettrone con formazione di un unico **orbitale molecolare di legame**.

In questo modo ora i due elettroni non appartengono più all'uno o all'altro atomo, ma ruotano entrambi intorno all'intera struttura molecolare biatomica.

Si dice che i due elettroni sono stati messi in comune o in **compartecipazione**.

Ciascun nucleo "vede" ora intorno a sé i 6 elettroni non condivisi più i 2 elettroni condivisi per un totale di 8 elettroni. La condivisione di una coppia di elettroni permette a ciascun atomo di Cloro di raggiungere la configurazione stabile dell'ottetto. Alla molecola biatomica del Cloro viene assegnata la seguente formula di struttura



dove il trattino indica i due elettroni condivisi e quindi il legame covalente tra i due atomi di idrogeno.

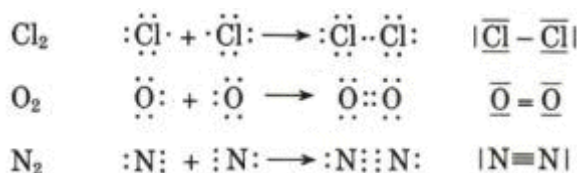
Prendiamo ora in considerazione la molecola biatomica dell'Ossigeno O_2 . L'Ossigeno presenta 8 elettroni di cui 6 nel livello energetico più esterno. Quando due atomi di ossigeno si avvicinano ciascuno cerca di strappare all'altro due elettroni, senza riuscirci, per raggiungere la configurazione dell'ottetto.

Il risultato è che in questo caso vengono messe in comune 2 coppie di elettroni con sovrapposizione di 2 coppie di orbitali e formazione di 2 orbitali di legame, ciascuno contenente una coppia di elettroni. Ciascun atomo di ossigeno ora "vede" intorno a sé 8 elettroni nel suo livello energetico più superficiale. La molecola di O_2 è quindi tenuta insieme da un **legame covalente doppio**. La formula di struttura è

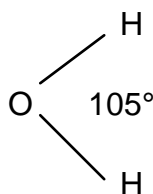


dove il doppio trattino indica i due legami.

Esistono anche **legami covalenti tripli** come nel caso dell'Azoto gassoso N_2 . Qui ciascun atomo di Azoto, possedendo solo 5 elettroni superficiali è costretto a condividerne 3 con un altro atomo di azoto per completare l'ottetto.



I legami covalenti sono **direzionali**, nel senso che essi formano tra loro angoli ben determinati. Ad esempio l'angolo compreso tra i due legami Idrogeno-Ossigeno nell'acqua è di circa 105° .



Inoltre mentre i legami semplici permettono la **libera rotazione** degli atomi intorno all'asse di legame, i legami doppi e tripli non permettono rotazioni. La possibilità o meno di effettuare delle torsioni interne alle molecole ha delle conseguenze notevoli soprattutto per le grosse

molecole organiche. Le proteine, ad esempio, macromolecole formate da migliaia di atomi, sono in grado di assumere strutture e funzioni specifiche proprio tramite rotazioni interne attorno agli assi di legame.

1.8.3 Legame covalente polare

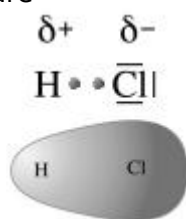
Quando gli elettroni vengono condivisi da atomi del medesimo elemento, ciascun atomo li attrae con la medesima intensità. In questo caso gli elettroni condivisi (**elettroni di legame**) possono essere immaginati come una nuvola negativa che si dispone in maniera omogenea e simmetrica intorno ai due nuclei senza produrre alcun tipo di polarità sulla molecola. Si parla in questo caso di **legame covalente puro**.

Nella maggior parte dei casi però gli atomi che formano il legame covalente appartengono ad elementi diversi che presentano una diversa forza di attrazione sugli elettroni di legame.

Si definisce **elettronegatività χ (chi)** la forza con cui un atomo attira a sé gli elettroni condivisi. I valori di elettronegatività si trovano tabulati nella tabella periodica e presentano il valore minimo in basso a sinistra (Francio = 0.7) e crescono diagonalmente fino ad assumere il valore massimo in alto a destra (Fluoro = 4). In genere si usa la scala di elettronegatività di Pauling.

Dunque, quando si forma un legame covalente tra due atomi che presentano diversa elettronegatività la nube elettronica che costituisce il legame covalente risulta spostata verso l'atomo più elettronegativo. Quest'ultimo acquista pertanto una carica parzialmente negativa (indicata con δ^-), mentre l'altro una carica parzialmente positiva (δ^+). La distribuzione asimmetrica della nuvola elettronica produce dunque due poli aventi carica opposta (**dipolo**) ed il legame viene perciò definito **covalente polare**.

E' ciò che accade, ad esempio nella molecola dell'acido Cloridrico (HCl) in cui l'Idrogeno condivide un elettrone con il Cloro. Il Cloro più elettronegativo presenta una parziale carica negativa e la molecola di HCl risulta polare



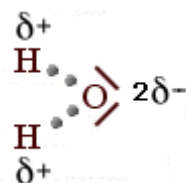
Maggiore è la differenza di elettronegatività ($\Delta\chi$) tra i due elementi e maggiore sarà la polarità del legame (le cariche parziali saranno più vicine ad una intera carica).

Quando la differenza di elettronegatività tra i due elementi supera il valore critico di 1.9, si assume che l'elemento più elettronegativo sia in grado di strappare l'elettrone all'altro elemento ed il legame viene descritto come ionico.

Possiamo dunque descrivere il legame ionico come un caso limite del legame covalente polare per $\Delta\chi > 1.9$

Prendiamo ora in considerazione la molecola dell'acqua H_2O

Ciascun atomo di Idrogeno condivide il suo elettrone con uno dei due elettroni condivisi dall'Ossigeno



Si formano due legami covalenti. Ma le nuvole elettroniche ad essi associate vengono in questo caso attratte con maggior forza dal nucleo dell'ossigeno (più elettronegativo), il quale contiene ben 8 protoni contro il solo protone che costituisce ciascun nucleo di Idrogeno.

Ancora una volta possiamo rappresentarci la situazione immaginando che la nuvola elettronica negativa sia deformata, più densa sopra l'elemento più elettronegativo.

La carica che si forma alle estremità o poli della molecola sarebbe intera e non parziale solo se la differenza di elettronegatività tra i due elementi fosse talmente elevata da permettere all'elemento più elettronegativo di strappare l'elettrone di legame. In tal caso si formerebbero però due ioni ed il legame non verrebbe descritto più come covalente, ma come ionico.

Tutte le sostanze chimiche che al loro interno presentano dei dipoli si dicono **polari**, le altre **apolari**.

La presenza di un dipolo sulle molecole d'acqua può essere facilmente rilevata osservando che un sottile filo d'acqua che scende da un rubinetto viene deviato dalla verticale se gli viene avvicinato un bastoncino di plastica o vetro caricato elettricamente per strofinio.

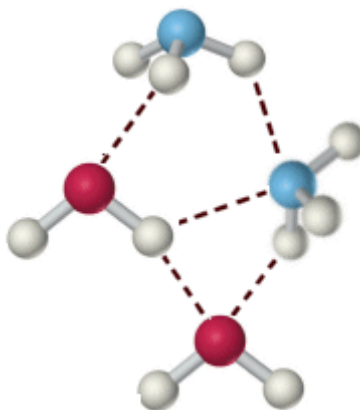
1.9 Legami intermolecolari

Le molecole polari sono soggette ad ulteriori **legami deboli intermolecolari**, di reciproca attrazione elettrostatica, tra i poli opposti delle molecole stesse, detti **legami dipolo-dipolo** (o interazioni dipolo-dipolo).

1.9.1 Legame Idrogeno

I **legami Idrogeno** (o **ponti a Idrogeno**) sono un caso particolare di interazione dipolo-dipolo. Si presentano quando l'Idrogeno si lega con un legame covalente polare ad uno dei tre elementi più elettronegativi della tabella periodica: il Fluoro, l'Ossigeno o l'Azoto (sigla **FON**). In questo caso la differenza di elettronegatività e di conseguenza la polarità del legame sono così elevate da generare delle interazioni dipolo-dipolo particolarmente intense. I legami idrogeno si rappresentano come linee tratteggiate che collegano il polo positivo di un dipolo al polo negativo di un altro. In un legame Idrogeno gli atomi di idrogeno fanno da ponte tra due atomi del gruppo FON, avendo con uno di questi un legame covalente polare e con l'altro un legame elettrostatico.

In una soluzione di acqua H_2O ed ammoniaca NH_3 , ad esempio, si formano ponti ad idrogeno tra Ossigeno ed Azoto, tra Ossigeno ed Ossigeno e tra Azoto ed Azoto.



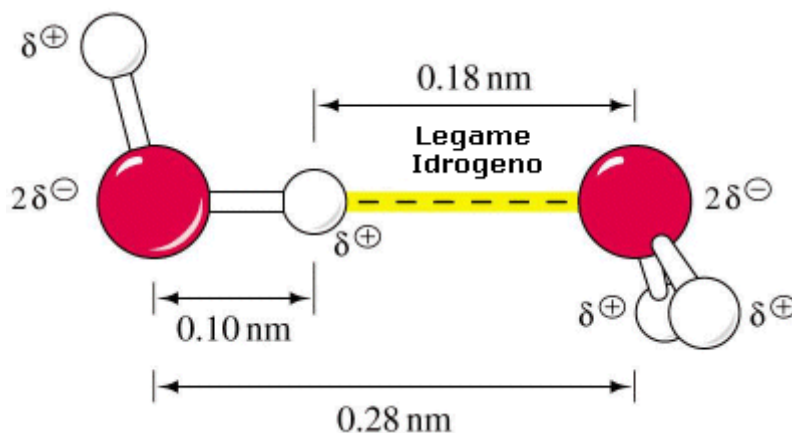
I legami Idrogeno sono interazioni fondamentali per le strutture biologiche.

In particolare essi influenzano l'attività dell'acqua come liquido organico e sono responsabili della stabilità e del comportamento biologico di molte grosse molecole organiche (proteine e acidi nucleici).

Di tale secondo aspetto ci occuperemo quando affronteremo lo studio dei principali composti di interesse biologico, mentre ora approfondiremo il comportamento e le caratteristiche chimiche dell'acqua.

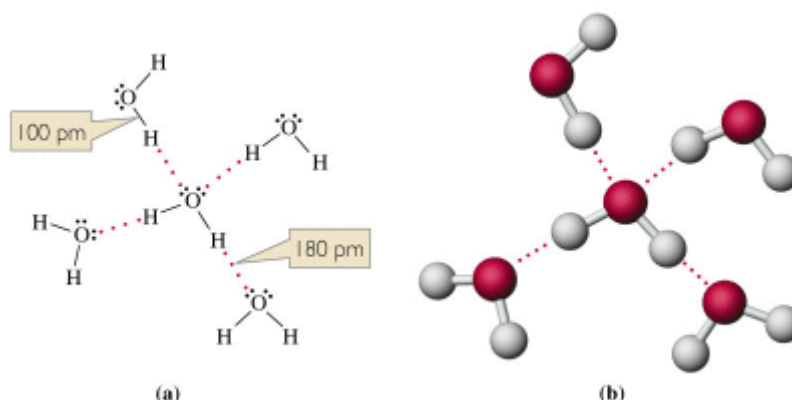
1.10 Peculiarità chimico-fisiche e importanza biologica dell'acqua

L'acqua costituisce un dipolo particolarmente intenso in quanto la differenza di elettronegatività tra Ossigeno ed Idrogeno risulta piuttosto elevata. In queste condizioni le molecole d'acqua allo stato liquido tendono a disporsi in modo da presentare il polo negativo (Ossigeno) di una rivolto verso il polo positivo (idrogeno) di un'altra. Si formano così legami intermolecolari di natura elettrostatica (legami idrogeno) che mantengono fra loro unite le molecole.



Tale legame è meno intenso di un normale legame covalente e a temperatura ambiente non è in grado di bloccare le molecole in una posizione determinata. Se ciò avvenisse l'acqua solidificherebbe.

Ciononostante il legame tra le molecole dipolari dell'acqua è molto più intenso della maggior parte dei legami esistenti tra altre molecole polari. Nell'acqua i legami a idrogeno si formano e si spezzano in continuazione (si calcola che la vita media di un legame a idrogeno sia di circa 10^{-11} s) lasciando libere le molecole di muoversi scivolando le une rispetto all'altro, ma garantendo complessivamente una notevole forza di coesione tra esse.



La presenza del legame a idrogeno tra le molecole d'acqua è fondamentale per comprendere le caratteristiche chimico-fisiche e biologiche di quest'ultima.

La presenza dell'acqua è essenziale per qualsiasi forma di vita conosciuta. E' nell'acqua che si ritiene sia nata la vita e di acqua sono costituite, per gran parte della loro massa, le cellule.

Temperatura e passaggi di stato

La temperatura di un qualsiasi corpo è una misura dell'energia cinetica media ($\bar{E}_c = \frac{1}{2}mv^2$) delle molecole che lo costituiscono, secondo la relazione $\bar{E}_c = \frac{3}{2}kT$, dove k

è la costante di Boltzmann. Ciò significa che a temperature più elevate corrispondono energie cinetiche maggiori e quindi maggiori velocità delle molecole. Possiamo rappresentarci una sostanza allo stato solido come costituita di particelle (atomi, ioni o molecole) che vibrano intorno a posizioni di equilibrio ben determinate senza poter sostanzialmente mutare la loro posizione reciproca. Aumentando la temperatura tali particelle vibrano sempre più rapidamente finché si separano e, passando allo stato liquido, sono in grado di muoversi le une rispetto alle altre, pur rimanendo aderenti.

Se infine facciamo aumentare ulteriormente la temperatura le molecole riescono a vincere le forze di attrazione che le tengono unite e non aderiscono più. Le distanze che separano una molecola dall'altra diventano molto elevate e la materia viene a trovarsi in tal modo allo stato gassoso o aeriforme.

1.10.1 Caratteristiche termiche dell'acqua e funzione termoregolatrice

L'acqua presenta un **elevato calore specifico**.

Il calore specifico di una sostanza è il numero di calorie necessarie per elevare di 1°C la temperatura di un grammo di sostanza. Ricordando la definizione di caloria è evidente che il calore specifico dell'acqua è 1 cal/(g °C).

Dire che l'acqua presenta un elevato calore specifico significa che, a parità di massa, l'acqua necessita di una quantità di calore molto più elevata di qualsiasi altra sostanza inorganica (ammoniaca (NH₃) esclusa) per manifestare lo stesso effetto di riscaldamento (lo stesso aumento di temperatura). In altre parole l'acqua, rispetto ad altre sostanze può assorbire molto calore senza scaldarsi eccessivamente. Una conseguenza di questo fenomeno è che l'acqua si scalda (e si raffredda) molto più lentamente delle altre sostanze.

L'elevata **capacità termica** dell'acqua (quantità di calore necessaria per aumentare di 1°C la temperatura di un corpo di massa qualsiasi) si spiega con la presenza dei legami idrogeno tra le sue molecole. Quando forniamo calore all'acqua solo una parte di questo si trasforma in un aumento di energia cinetica delle molecole, e quindi in un aumento di temperatura, poichè in parte esso è utilizzato per spezzare i legami idrogeno che imbrigliano le strutture molecolari.

Per lo stesso motivo l'acqua assorbe anche molto calore durante il processo di evaporazione, presenta cioè un **elevato calore di evaporazione** (a 25°C e 1 Atm 0,584 kcal/g). Ancora una volta il calore fornito deve vincere delle forze di attrazione tra le molecole particolarmente intense (legami idrogeno) per farle passare allo stato di vapore, abbandonando la superficie del liquido.

L'elevata capacità termica e l'elevato calore di evaporazione fanno dell'acqua un ottimo liquido refrigerante e, in generale, termoregolante, capace cioè di ammortizzare in modo molto efficace gli sbalzi termici.

E' ad esempio un fatto noto che l'acqua del mare si scalda e si raffredda più lentamente della terraferma e quindi le grandi masse d'acqua presenti sulla superficie terrestre, come un'enorme volano termico, riducono le escursioni termiche giornaliere e stagionali, svolgendo un'azione mitigatrice sul clima delle località marine e lacustri.

Ma al di là delle modificazioni climatiche, gli effetti più importanti da questo punto di vista, l'acqua li manifesta sugli esseri viventi. L'acqua presente negli organismi (dal 50% al 95% in peso) è infatti in grado di assorbire in modo particolarmente efficace le variazioni esterne di temperatura. In particolare alcuni esseri viventi, tra cui l'uomo, sono in grado di eliminare calore in eccesso facendo evaporare acqua (**sudorazione**).

Il mantenimento dell'equilibrio termico è un fatto vitale per gli esseri viventi in quanto molte macromolecole sono termolabili e vengono distrutte ad elevate temperature, mentre a basse temperature la velocità delle reazioni chimiche diminuisce al punto tale da essere incompatibile con la vita.

Un'altra caratteristica notevole dell'acqua è che quando solidifica aumenta di volume, contrariamente a quanto fanno la maggior parte delle altre sostanze chimiche. Ciò è dovuto al fatto che la solidificazione avviene attraverso una stabilizzazione dei legami idrogeno, i quali costringono ora le molecole a disporsi in una struttura cristallina ordinata, a maglie più larghe rispetto a quanto avveniva nel liquido. Se il ghiaccio fosse più pesante dell'acqua si accumulerebbe, anno dopo anno, sul fondo dei bacini idrici senza possibilità di ritornare allo stato liquido. In tal modo le riserve idriche mondiali si esaurirebbero (diventando tra l'altro sempre più salate) ed ogni forma vivente in esse sarebbe destinata all'estinzione. La formazione di strati di ghiaccio galleggiante tende invece a proteggere l'acqua sottostante da ulteriori diminuzioni di temperatura.

1.10.2 Capillarità e imbibizione

Per la sua elevata polarità l'acqua aderisce (**forze di adesione**) fortemente a qualunque superficie costituita da molecole che presentino cariche elettriche. In tal modo si spiega perchè l'acqua "bagna". Tale capacità dell'acqua è alla base dei fenomeni di capillarità ed imbibizione, per i quali l'acqua è in grado di salire attraverso tubi sottili (capillari) o di invadere materiali porosi, letteralmente scalando le loro superfici. I fenomeni di capillarità ed imbibizione presentano una notevole valenza biologica, soprattutto nel mondo vegetale, in quanto sono alla base della circolazione dei fluidi nelle piante. L'imbibizione è ad esempio fondamentale per i processi di germinazione, poichè permette di spaccare i resistenti tegumenti che proteggono il

seme (si ritiene che gli Egiziani staccassero i blocchi di pietra necessari per costruire le piramidi, praticando dei fori all'interno dei quali facevano dilatare dei bastoni di legno per imbibizione).

1.10.3 Le soluzioni acquose ed il pH

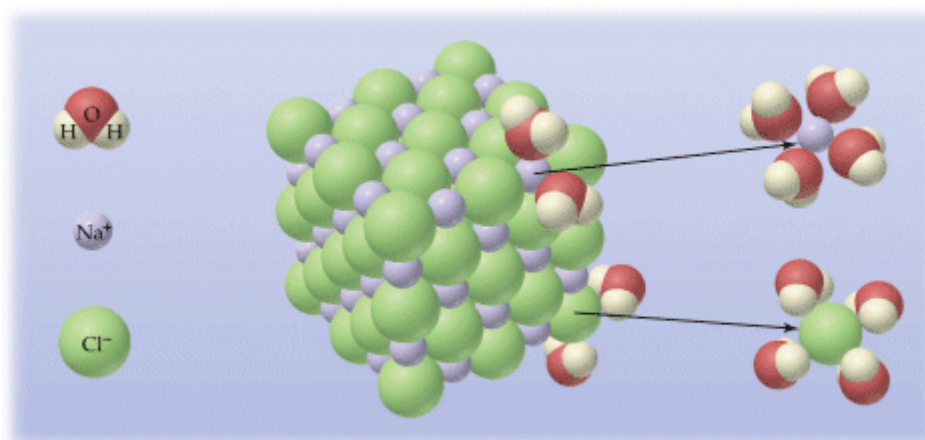
Ma l'azione biologica probabilmente più importante svolta dall'acqua è quella di agire da **mezzo disperdente** per le molecole.

Tutte le reazioni chimiche che avvengono all'interno della cellula richiedono infatti che i reagenti siano intimamente mescolati a livello molecolare. Il sistema che ne deriva prende il nome di **soluzione acquosa**. In una soluzione acquosa l'acqua è il **solvente**, mentre le sostanze presenti in concentrazione minore sono i **soluti**. Le reazioni che avvengono in soluzione sono molto più veloci di reazioni di tipo diverso, poiché essendo i reagenti completamente mescolati a livello molecolare hanno una maggior probabilità di scontrarsi e reagire.

Inoltre le sostanze disciolte in acqua possono essere trasportate all'interno dell'organismo in modo semplice ed efficiente (sangue, linfa etc).

L'acqua non scioglie qualsiasi sostanza, ma solo le sostanze dotate di carica elettrica (ioniche e polari) per le quali presenta grande affinità. Infatti i dipoli che costituiscono le molecole d'acqua vengono attirati dagli ioni o dalle molecole polari. L'attrazione che l'acqua esercita su tali particelle (**interazioni idrofile**) è talmente elevata da arrivare a vincere le forze interne di coesione. Le molecole di soluto vengono quindi staccate ad una ad una, rivestite di molecole d'acqua (idratazione) e portate in soluzione.

Nel caso ad esempio di un soluto ionico, come il Cloruro di Sodio, gli ioni Na^+ vengono circondati da molecole d'acqua che puntano verso di essi il proprio polo negativo (Ossigeno), mentre gli ioni Cl^- attirano i poli positivi delle molecole d'acqua (Idrogeno).



Se il soluto è costituito di particelle di dimensioni superiori a $10^{-3} \mu$ ($1 \mu = 10^{-3} \text{ mm}$) e inferiori a 1μ , (sopra il micron si parla di sospensioni) la soluzione presenta delle caratteristiche particolari e viene detta soluzione (o sistema) **colloidale**. Nei colloidi il soluto prende il nome di **fase dispersa**. A differenza di quanto avviene nelle soluzioni vere, nei colloidi è possibile evidenziare le particelle della fase dispersa tramite l'**effetto Tyndall**, illuminando cioè il colloide ed osservandolo perpendicolarmente alla direzione del fascio luminoso. Le particelle della fase dispersa, avendo dimensioni dell'ordine di grandezza della lunghezza d'onda della luce impiegata per illuminarle, la diffondono e diventano così visibili (è lo stesso effetto che si produce quando un raggio di sole che entra da una finestra si "materializza" illuminando il pulviscolo atmosferico).

Inoltre se aumentiamo la concentrazione di una soluzione vera il soluto si deposita come corpo di fondo cristallino, mentre in un sistema colloidale ciò non avviene ed esso o diventa gelatinoso o coagula (flocula) formando grossi agglomerati irregolari (albume d'uovo, sangue etc). I colloidi diluiti sono simili alle soluzioni vere e sono detti **sol**, quelli più concentrati presentano un aspetto gelatinoso e sono detti **gel**.

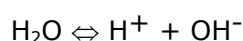
Le soluzioni biologiche, oltre a presentare soluti di piccole dimensioni (ioni, zuccheri, amminoacidi etc), contengono anche grosse macromolecole (soprattutto proteine) che ne fanno dei sistemi che presentano sia le caratteristiche delle soluzioni vere che quelle delle soluzioni colloidali.

L'acqua non scioglie le sostanze apolari come i grassi (lipidi). Le molecole apolari vengono letteralmente escluse dall'acqua, per cui esse tendono a formare grossi aggregati tra di loro (olio in acqua). Tali effetti di esclusione a carico di molecole apolari vanno sotto il nome di **interazioni idrofobiche**.

Nelle cellule le interazioni idrofobiche hanno grande importanza, sia nel costituire riserve di sostanze lipidiche, sia soprattutto nel determinare la struttura delle membrane cellulari. Le membrane che circondano tutte le cellule e le separano dall'ambiente esterno sono in pratica costituite da sottili strati lipidici stabilizzati dalle repulsioni idrofobiche che l'acqua esercita sia dall'interno che dall'esterno della cellula.

Il comportamento dell'acqua è legato infine ad un'altra importante caratteristica delle soluzioni: l'acidità.

Nell'acqua pura una piccolissima percentuale di molecole (circa 2 molecole ogni miliardo) si dissociano secondo la reazione

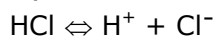


In pratica un atomo di Idrogeno si separa dalla molecola d'acqua alla quale apparteneva, abbandonando il suo elettrone. L'Idrogeno si distacca quindi come ione positivo o **idrogenione**, mentre lo ione negativo che si forma prende il nome di **ione ossidrilico** o **idrossido** (OH^-).

Naturalmente nell'acqua pura il numero di ioni H^+ è uguale al numero di ioni OH^- . In tali condizioni la soluzione si dice **neutra**.

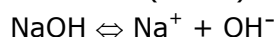
Ma se introduciamo nell'acqua un soluto in grado di rilasciare ioni H^+ o ioni OH^- l'equilibrio viene alterato.

Le sostanze che in acqua sono in grado di dissociarsi, facendo aumentare gli ioni H^+ sono dette acide. Un esempio è l'acido cloridrico (HCl), una sostanza secreta anche dal nostro stomaco



Quando in una soluzione vi è un eccesso di ioni H^+ rispetto agli ioni OH^- , la soluzione si dice **acida**

Le sostanze che in acqua sono in grado di dissociarsi, facendo aumentare gli ioni OH^- sono dette basiche. Un esempio è l'idrossido di sodio (NaOH)



Quando in una soluzione vi è un eccesso di ioni OH^- rispetto agli ioni H^+ , la soluzione si dice basica. Per misurare la concentrazione degli ioni H^+ si ricorre ad una scala convenzionale, la **scala del pH**

pH = 7 soluzione neutra

pH < 7 soluzione acida

pH > 7 soluzione basica

Una soluzione è tanto più acida quanto più basso è il suo pH ed è tanto più basica quanto più elevato il suo pH. La scala del pH va solitamente da 0 a 14, ma sono possibili anche valori esterni a tale intervallo. La scala del pH è una scala logaritmica. Ciò significa che per ogni variazione di un punto del pH la concentrazione degli ioni H^+ varia di un fattore 10. Una soluzione a pH = 2 è $10^4 = 10.000$ più concentrata in ioni H^+ di una soluzione a pH = 6

In genere ogni soluzione biologica presenta un pH ben determinato e non tollera variazioni eccessive.

Il sangue umano ad esempio presenta un pH = 7,4 ed una variazione superiore a $\pm 0,3$ può rapidamente portare al coma ed alla morte. Questa enorme sensibilità alle variazioni di pH è essenzialmente legata al fatto che le proteine che controllano il nostro metabolismo (enzimi) lavorano correttamente solo a certi valori di pH. Ad esempio la pepsina, un enzima che inizia la digestione delle proteine nello stomaco, è in grado di lavorare solo con pH compresi tra 1 e 2 (questo è uno dei motivi per cui le pareti dello stomaco sono in grado di secernere grandi quantità di acido cloridrico).

2 La chimica della vita

Da un punto di vista chimico ciò che distingue un essere vivente dalla materia inanimata non è il tipo di elementi chimici di cui è costituito, ma la complessità con cui tali elementi si legano per dare origine alle enormi varietà delle sostanze organiche.

Il Carbonio che costituisce il diamante, la grafite e le rocce calcaree è assolutamente identico al carbonio che forma l'emoglobina del sangue o il glucosio, ma in tali molecole biologiche esso si lega a formare strutture incomparabilmente più complesse.

Gli esseri viventi richiedono in definitiva composti chimici altamente organizzati, ordinati e spesso caratterizzati da un elevato contenuto energetico.

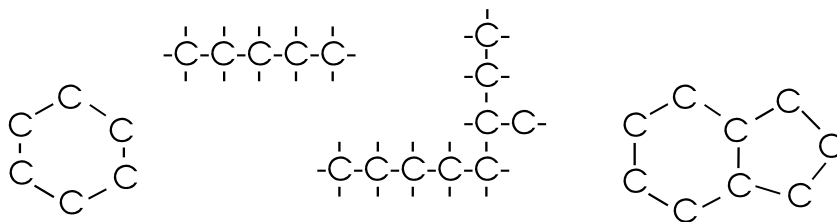
Le molecole biologiche sono composte peraltro da un numero relativamente esiguo di elementi chimici. Dei 92 elementi esistenti in natura gli esseri viventi ne utilizzano in pratica una trentina e quasi tutti a basso peso atomico (i primi elementi della tabella periodica).

Tra questi alcuni sono presenti in tracce, altri vengono utilizzati in maniera massiccia, basti pensare che il 99% di un essere vivente è formato da 6 elementi chimici: il Carbonio (C), l'Idrogeno (H), l'Ossigeno (O), l'Azoto (N), il Fosforo (P) e lo Zolfo (S). [sigla **CHONPS**].

2.1 Il carbonio

Un posto centrale nella chimica della vita spetta al Carbonio. Il motivo principale è che il Carbonio, oltre ad essere un elemento particolarmente diffuso in natura, possiede 4 elettroni superficiali che può condividere con altri elementi chimici (ed anche con altri atomi di Carbonio) per formare quattro legami covalenti stabili.

Il fatto più interessante è però la capacità del carbonio di legarsi con altri atomi di carbonio per formare lunghe catene, variamente ramificate o addirittura chiuse a formare anelli (in realtà poligoni), mantenendo nel contempo legami liberi che vengono saturati da altri elementi chimici (essenzialmente H, O, N). In tal modo le combinazioni possibili risultano virtualmente infinite.



In molti casi le macromolecole organiche raggiungono complessità e varietà ancor maggiori attraverso il processo di **polimerizzazione**.

Un **polimero** è un composto formato dalla successione di molte molecole uguali (**monomeri**) o di pochi tipi diversi. Uno stesso monomero può agganciarsi in modi diversi formando polimeri aventi differenti caratteristiche (il glucosio, ad esempio, forma sia la cellulosa che l'amido).

Il Carbonio va quindi a costituire una specie di impalcatura, rappresenta lo scheletro di tutte le sostanze organiche, al punto che la chimica organica è conosciuta anche come **chimica del carbonio**.

L'unica sostanza con caratteristiche chimiche molto simili è il Silicio, l'elemento con il quale si costruiscono i chips dei computer. Forse in qualche altro mondo potrebbe esistere una vita basata sulla chimica del Silicio.

Quando il Carbonio si lega con se stesso produce molecole dalla geometria variabile che dipende dagli angoli di legame.

Si possono a tal proposito distinguere tre casi:

2.1.1 carbonio tetraedrico

*il Carbonio forma 4 legami covalenti semplici (**carbonio tetraedrico**)*

in questo caso i quattro legami sono tra loro equidistanti e formano l'uno con l'altro angoli di legame di circa 109°. Possiamo immaginare l'atomo di Carbonio al centro di un tetraedro con i quattro legami che puntano verso i vertici.



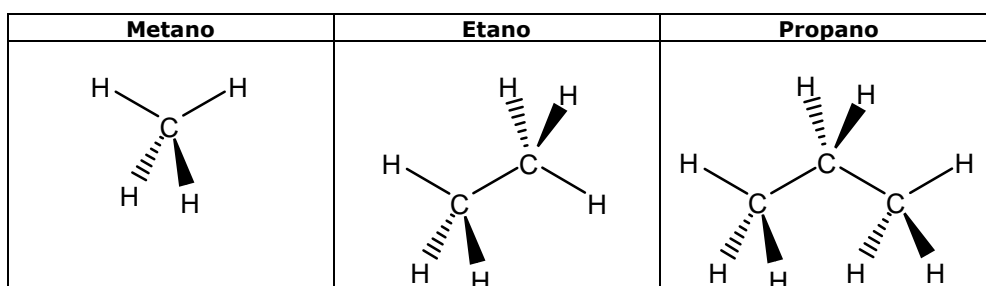
La famiglia più semplice di composti organici che esemplifica questa geometria è quella degli **alcani**. Gli alcani sono degli **idrocarburi saturi**. Il termine "idrocarburi" sta ad indicare dei composti formati solo da idrogeno e carbonio. Il termine "saturi" sta ad indicare il fatto che la catena carboniosa è saturata dall'idrogeno, presenta cioè il numero massimo di atomi di idrogeno possibili. Gli alcani sono classificati in relazione al numero di atomi di carbonio che forma la catena carboniosa

Metano	CH ₄
Etano	C ₂ H ₆
Propano	C ₃ H ₈
Butano	C ₄ H ₁₀
Pentano	C ₅ H ₁₂
Esano	C ₆ H ₁₄
Eptano	C ₇ H ₁₆
Ottano	C ₈ H ₁₈
Nonano	C ₉ H ₂₀
Decano	C ₁₀ H ₂₂
etc	C _n H _{2n+2}

La desinenza che caratterizza i loro nomi è **-ano**

In queste condizioni le catene che si formano non hanno andamento rettilineo, ma a zig-zag. Se immaginiamo da esempio i legami Carbonio-Carbonio sul piano del foglio, i legami residui escono davanti e dietro il foglio. Per rappresentare la reciproca disposizione degli atomi e dei legami nello spazio si rappresentano i legami giacenti sul foglio come segmenti continui, i legami in avvicinamento (rispetto all'osservatore) come cunei pieni ed i legami in allontanamento come cunei tratteggiati.

	Legame in avvicinamento
	Legame in allontanamento
	Legame giacente sul piano



Si utilizzano anche altre rappresentazioni più compatte dei composti organici come le **formule razionali** e le **formule schematiche**

Formula razionale: la struttura viene descritta in modo sintetico condensando gli atomi di idrogeno intorno al carbonio al quale sono legati

Metano	Etano	Propano	Butano
	$\text{CH}_3 - \text{CH}_3$	$\text{CH}_3 - \text{CH}_2 - \text{CH}_3$	$\text{CH}_3 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_3$

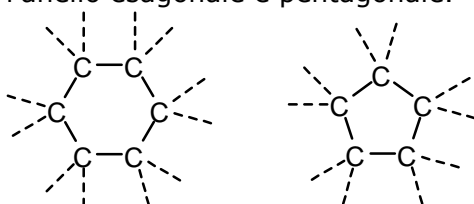
Formula schematica rappresenta solo la catena carboniosa della molecola attraverso una linea spezzata. Le estremità aperte della spezzata rappresentano gruppi CH_3 , mentre i vertici gruppi CH_2 . Tutti gli altri elementi chimici (che non siano C ed H) vengono rappresentati.

Metano	Etano	Propano	Butano

Poiché i legami sono semplici gli atomi possono ruotare attorno all'asse di legame Carbonio-Carbonio e, in opportune condizioni, chiudersi ad anello.

Naturalmente non sono possibili tutte le forme geometriche. Gli angoli interni non possono infatti essere molto diversi dai 109° caratteristici del carbonio tetraedrico.

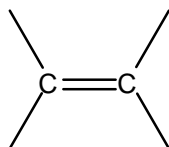
Le forme più stabili (che non producono tensioni eccessive sugli angoli di legame) e quindi di gran lunga più frequenti sono l'anello esagonale e pentagonale.



2.1.2 Carbonio planare

*Il Carbonio forma 2 legami semplici ed 1 doppio (**carbonio planare**)*

In questo caso i legami giacciono su di un piano a 120° l'uno dall'altro.



Non vi è libera rotazione intorno al legame Carbonio-Carbonio

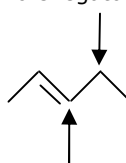
La famiglia più semplice di composti organici che esemplifica questa geometria è quella degli **alcheni**. Gli alcheni sono degli **idrocarburi insaturi**. Il termine "insaturi" sta ad indicare il fatto che la catena carboniosa non è completamente saturata dall'idrogeno. Nel caso specifico l'insaturazione si manifesta con la presenza di un doppio legame tra due atomi di carbonio. Idrogenando il doppio legame (aggiungendo due atomi di idrogeno) si può infatti trasformare un alchene in un alcano. Gli alcheni hanno la stessa radice dell'alcano con ugual numero di atomi di carbonio, ma cambiano la desinenza in **-ene**.

Etene	C_2H_4
Propene	C_3H_6
Butene	C_4H_8
Pentene	C_5H_{10}
Esene	C_6H_{12}
Eptene	C_7H_{14}
Ottene	C_8H_{16}
Nonene	C_9H_{18}
Decene	$\text{C}_{10}\text{H}_{20}$
etc	C_nH_{2n}
Etene	C_2H_4

Etene	Propene	Butene
$\text{CH}_2 = \text{CH}_2$	$\text{CH}_2 = \text{CH} - \text{CH}_3$	$\text{CH}_2 = \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{CH}_3$

Nelle formule schematiche i vertici rappresentano gruppi CH_2 , CH o C a seconda che vi convergano rispettivamente 2, 3 o 4 legami (segmenti).

Su questo punto convergono 2 legami:
il carbonio è legato a 2 idrogeni $-\text{CH}_2-$



Su questo punto converge 1 legame:
il carbonio è legato a 3 idrogeni $-\text{CH}_3$

Su questo punto convergono 3 legami:
il carbonio è legato ad 1 idrogeno $=\text{CH}-$

2.1.3 Carbonio lineare

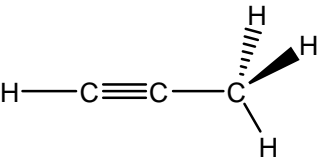
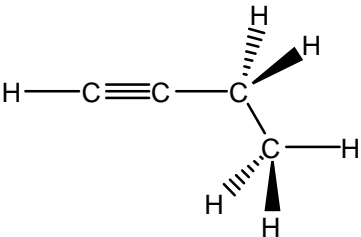


Il Carbonio forma 1 legame semplice ed 1 triplo oppure 2 legami doppi (**Carbonio lineare**). In questo caso i legami giacciono lungo una retta a 180° l'uno dall'altro



Anche in questo caso è impedita la libera rotazione intorno all'asse Carbonio-Carbonio interessato dal legame triplo.

La famiglia più semplice di composti organici che esemplifica questa geometria è quella degli **alchini**. Anche gli alchini, come gli alcheni, sono degli **idrocarburi insaturi**. Nel caso specifico l'insaturazione si manifesta con la presenza di un triplo legame tra due atomi di carbonio. Gli alchini hanno la stessa radice dell'alcano con ugual numero di atomi di carbonio, ma cambiano la desinenza in **-ino**.

Etino	C_2H_2
Propino	C_3H_4
Butino	C_4H_6
Pentino	C_5H_8
Esino	C_6H_{10}
Eptino	C_7H_{12}
Ottino	C_8H_{14}
Nonino	C_9H_{16}
Decino	$\text{C}_{10}\text{H}_{18}$
etc	$\text{C}_n\text{H}_{2n-2}$
Etino	C_2H_2

Etino	Propino	Butino
$\text{H}-\text{C}\equiv\text{C}-\text{H}$		
$\text{CH}\equiv\text{CH}$	$\text{CH}\equiv\text{C}-\text{CH}_3$	$\text{CH}\equiv\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$
		

Legami semplici, doppi e tripli possono comunque succedersi in modi diversi all'interno di una stessa molecola organica. Naturalmente queste strutture carboniose possiedono sempre legami liberi che utilizzano per legarsi con altri elementi chimici. In questo modo essi forniscono alla molecola che si forma le sue caratteristiche chimiche peculiari e aumentano grandemente il numero di combinazioni possibili tra atomi.

I composti organici che costituiscono tutti gli esseri viventi possono essere raggruppati in quattro classi fondamentali: *glucidi, lipidi, protidi e acidi nucleici*.

2.2 Glucidi (carboidrati o zuccheri)

In natura i glucidi si trovano come zuccheri semplici o **monosaccaridi** e zuccheri composti da 2 o più monosaccaridi. In quest'ultimo caso si parla rispettivamente di **disaccaridi** e **polisaccaridi**.

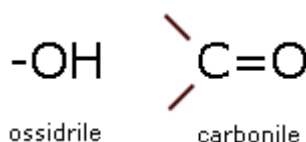
I glucidi sono costituiti solo da tre elementi chimici: Carbonio, Idrogeno e Ossigeno.

2.2.1 Monosaccaridi

I monosaccaridi sono formati da catene di atomi di carbonio, costituite da un minimo di 3 ad un massimo di 7 atomi. I monosaccaridi più diffusi in natura sono quelli con sei (**esosi**) e con cinque (**pentosi**) atomi di carbonio. I pentosi e gli esosi si chiudono in genere ad anello.

I chimici classificano i composti organici in relazione alla presenza nella loro molecola di particolari gruppi chimici, detti **gruppi funzionali**. Ciascuna classe di composti organici presenta uno o più gruppi funzionali caratteristici.

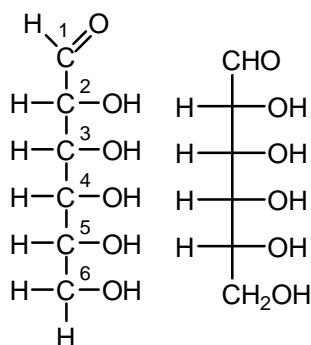
I monosaccaridi sono caratterizzati dalla presenza di due gruppi funzionali: l'**ossidrile** ed il **carbonile**.



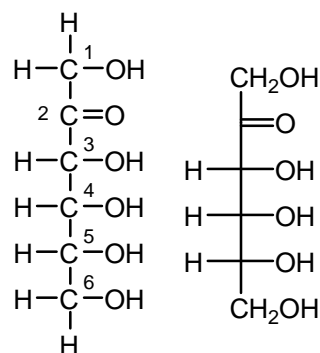
Un monosaccaride presenta il primo (**aldosi**) o il secondo (**chetosi**) carbonio della catena unito ad un atomo di ossigeno con un doppio legame covalente (gruppo funzionale carbonilico), mentre tutti gli altri atomi di carbonio sono uniti con un gruppo ossidrilico. Tutti i rimanenti legami del carbonio vengono saturati dall'idrogeno.

La desinenza **-osio** caratterizza i nomi dei monosaccaridi (glucosio, fruttosio etc).

Costruiamo un esoso generico con il carbonile in C₁ (**aldoesoso**) ed in C₂ (**chetoesoso**)



Aldoesoso

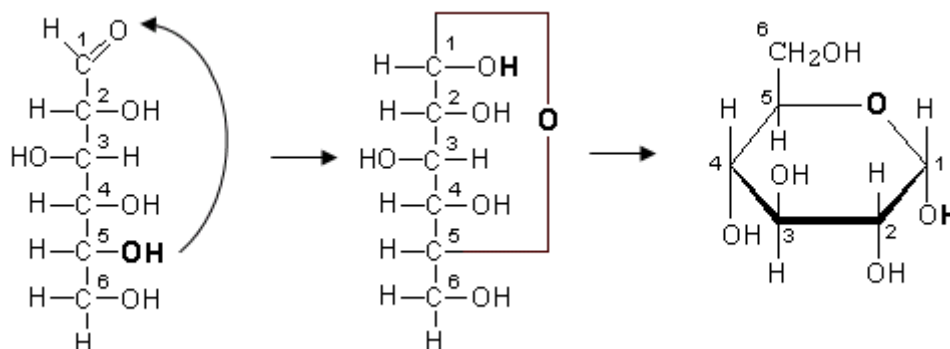


Chetoesoso

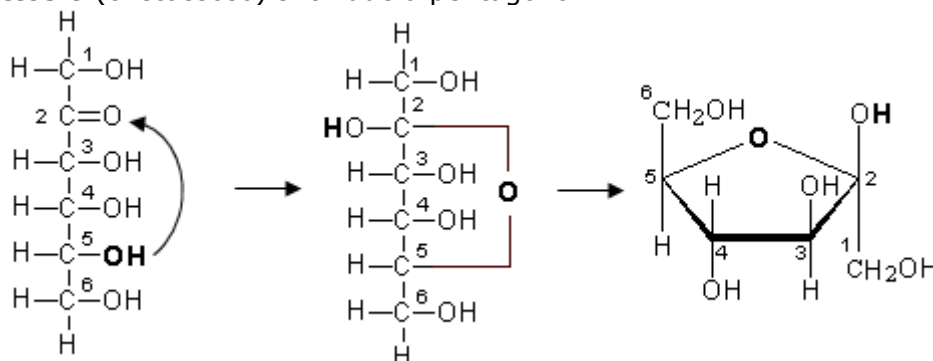
Queste sono le formula di struttura di un esoso generico. Esistono infatti diversi esosi con la stessa formula bruta $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$, che differiscono tra loro per la posizione dei 5 gruppi ossidrilici (a destra o a sinistra della catena carboniosa). L'esoso di gran lunga più diffuso in natura è il glucosio che presenta l'ossidrile C_3 a sinistra

In realtà gli esosi si chiudono ad anello poichè il gruppo carbonilico reagisce con l'ossidrile in C_5 formando un esagono (con l'ossigeno che fa da ponte tra C_1 e C_5).

Il **glucosio**, ad esempio, si chiude ad esagono



Mentre il **fruttosio** (chetoesoso) si chiude a pentagono



Tra gli aldoses più diffusi ricordiamo il **galattosio** (ossidrili C_3 e C_4 a sinistra) che si trova abbondante nel latte.

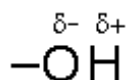
I pentosi possiedono tutti formula bruta $\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_5$.

Tra i pentosi ricordiamo il **ribosio**, un *aldopentoso* con struttura ciclica a pentagono (l'ossigeno fa da ponte tra C_1 e C_4). Il ribosio è una molecola fondamentale per la costruzione di molte sostanze organiche complesse, tra cui gli acidi nucleici (DNA ed RNA).

Infine tra i triosi ricordiamo l'aldeide glicerica o **gliceraldeide**, il più semplice tra gli zuccheri naturali, un aldotrioso che rappresenta un importante intermedio nel metabolismo degli zuccheri.

Tutti i monosaccaridi sono caratterizzati dalla formula bruta generica $C_nH_{2n}O_n$. In altre parole C, H ed O sono sempre presenti nel rapporto di 1:2:1. Per ogni atomo di carbonio ve ne sono 2 di idrogeno ed 1 di ossigeno. Poiché l'idrogeno e l'ossigeno sono presenti nelle stesse proporzioni in cui si trovano nella molecola d'acqua (2:1), i glucidi vengono anche detti **carboidrati** (idrati di carbonio). Ciò non significa naturalmente che nella loro molecola esista acqua in quanto tale.

La presenza di numerosi ossidrili, caratterizzati da una elevata polarità, rende i monosaccaridi facilmente solubili in acqua

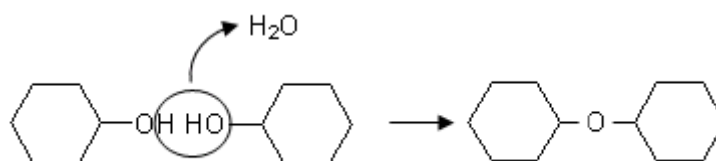


I monosaccaridi rappresentano il combustibile per eccellenza delle cellule. In particolare il glucosio che può essere velocemente trasportato e "bruciato" per fornire energia indispensabile alla vita. L'energia si trova concentrata soprattutto nei legami C-H, più energetici dei legami C-O.

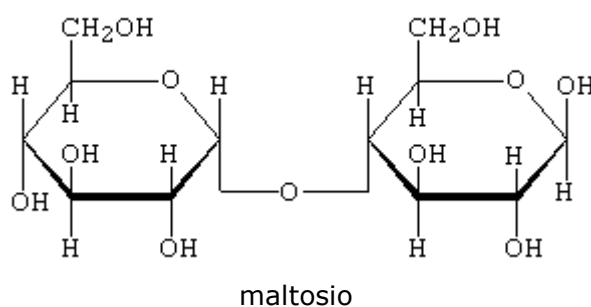
Molti monosaccaridi esplicano comunque anche altre funzioni biologiche, fungendo soprattutto da mattoni chimici per la costruzione di molecole complesse.

2.2.2 Disaccaridi e Polisaccaridi

I monosaccaridi possono facilmente unirsi tra loro facendo reagire 2 gruppi ossidrili con perdita di una molecola d'acqua, tramite una reazione detta di **condensazione**, rimanendo uniti tramite un atomo di ossigeno.



Quando si uniscono in questo modo due molecole di glucosio si forma un disaccaride detto **maltosio**.



Tra i disaccaridi ricordiamo inoltre il **saccarosio** (*glucosio + fruttosio*) e il **lattosio** (*glucosio + galattosio*).

Naturalmente la condensazione può avvenire tra molte molecole di monosaccaride formando lunghe catene polimeriche, variamente ramificate. In questo modo gli esseri viventi sintetizzano i **polisaccaridi**.

Certi polisaccaridi vengono sintetizzati per immagazzinare riserve di zuccheri, altri hanno invece funzioni strutturali (servono alla cellula come materiale da costruzione).

Hanno funzione di riserva di energia l'**amido** (nelle piante) e il **glicogeno** (negli animali). Entrambi sono polimeri del glucosio, ma differiscono nel modo in cui gli ossidrili reagiscono durante la condensazione. L'amido si trova abbondante nei semi e nei tuberi delle piante, mentre il glicogeno si concentra soprattutto nei muscoli e nel fegato. I polisaccaridi di riserva

non possono essere utilizzati così come sono per fornire energia, ma devono essere preventivamente riconvertiti nei monosaccaridi costituenti. La reazione avviene con l'introduzione di una molecola d'acqua nel punto in cui era stata precedentemente eliminata. La molecola d'acqua spezza il ponte ossigeno riformando i due ossidrili. Tale processo di separazione attraverso l'acqua è detto **idrolisi**.

Nelle piante alcuni polisaccaridi presentano importanti funzioni strutturali. Il più importante tra essi è certamente la **cellulosa**, un polimero del glucosio utilizzato dalle cellule vegetali per formare la *parete cellulare*, un rivestimento protettivo esterno alla membrana cellulare. La maggior parte degli animali non possiede l'enzima necessario per idrolizzare il legame che tiene unite le molecole di glucosio nella cellulosa. I mammiferi erbivori sono in grado di utilizzare in parte il glucosio della cellulosa grazie alla presenza nel loro apparato digerente di batteri simbiotici capaci di idrolizzarla.

Negli esseri viventi animali è più raro trovare polisaccaridi con funzioni strutturali. Possiamo ricordare comunque la **chitina**, un polisaccaride costituito da un derivato azotato del glucosio (*acetilglucosammina*) utilizzato dai crostacei e dagli insetti per costruire i loro esoscheletri.

2.3 Lipidi

I lipidi sono una classe abbastanza eterogenea di composti chimici aventi come caratteristica principale la quasi totale insolubilità in acqua. Gran parte dei legami chimici presenti nelle molecole lipidiche sono infatti legami C-H, i quali sono praticamente apolari e quindi idrofobici. Un lipide immerso in ambiente acquoso forma una fase separata proprio in virtù delle interazioni idrofobiche.

Per queste loro caratteristiche i lipidi vengono utilizzati dagli esseri viventi come materiale isolante ed impermeabilizzante.

Inoltre, poiché i legami C-H sono particolarmente energetici, i lipidi costituiscono generalmente un'ottima riserva di energia, facilmente accumulabile in depositi per la loro insolubilità. A parità di peso un lipide è in grado di fornire più del doppio di energia rispetto ad un carboidrato (circa 9 kcal/g contro le 3,75 kcal/g di un monosaccaride e le 4 kcal/g di un polisaccaride¹ o di una proteina).

Il contenuto di energia di un composto chimico per unità di peso può essere descritto tramite il suo grado di ossidazione o di riduzione.

Una reazione di **ossidazione** è una reazione in cui un composto chimico perde elettroni ed energia, mentre una **riduzione** è una reazione in cui un composto chimico acquista elettroni ed energia. Poiché nei composti organici nella maggior parte dei casi una ossidazione avviene per sostituzione di un legame C-O con un legame C-H, possiamo giudicare il grado di ossidazione o di riduzione di un composto organico dal numero di tali legami. In prima approssimazione possiamo dunque affermare che un composto sarà tanto più ossidato quanto più numerosi sono i suoi legami C-O e sarà tanto più ridotto quanto più numerosi sono i suoi legami C-H.

Così ad esempio un atomo di carbonio legato a 4 atomi di idrogeno a formare una molecola di metano (CH₄) è un composto molto energetico, con un elevato grado di riduzione (non per nulla lo usiamo come combustibile).

Quando bruciamo il metano per estrarne l'energia noi effettuiamo un'ossidazione. Sostituiamo infatti gli atomi di idrogeno con gli atomi di ossigeno ottenendo un composto estremamente ossidato e povero di energia, l'anidride carbonica CO₂. La differenza di energia tra i due composti è quella che noi sfruttiamo.

Ma tra il metano che presenta un elevato grado di riduzione e l'anidride carbonica che risulta completamente ossidata esistono composti chimici che presentano gradi di ossidazione intermedi.

Ad esempio se sostituiamo un idrogeno del metano con un ossidrile, otteniamo un composto parzialmente ossidato, ma ancora ricco di energia, l'alcool metilico o **metanolo** (CH₃OH).

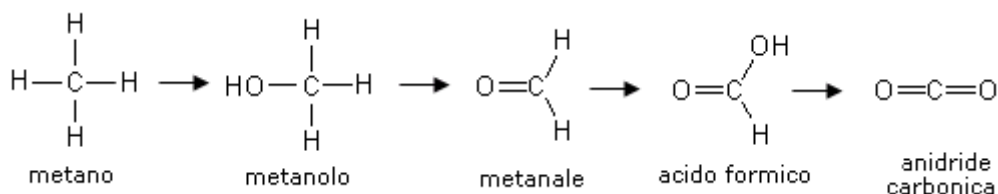
¹ il processo di idrolisi libera energia

Gli alcoli sono una famiglia di composti caratterizzati dal gruppo funzionale ossidrilico (-OH) e dalla desinenza **-olo** (ricordiamo che i composti organici si riuniscono in famiglie caratterizzate dalla presenza di un particolare raggruppamento chimico detto **gruppo funzionale**)

Se ossidiamo ulteriormente il metanolo otteniamo l'**aldeide formica** o formaldeide o metanale (H-CHO). Le aldeidi sono caratterizzate dal gruppo funzionale aldeidico (-CHO) e presentano desinenza **-ale**.

Continuando nel processo di ossidazione otteniamo un composto ancora più povero di energia, l'**acido formico** o acido metanoico (H-COOH). Gli acidi organici (o carbossilici) sono caratterizzati dal gruppo funzionale carbossile (-COOH) e dalla desinenza **-ico**.

Ossidando l'acido formico si ottiene infine l'anidride carbonica.

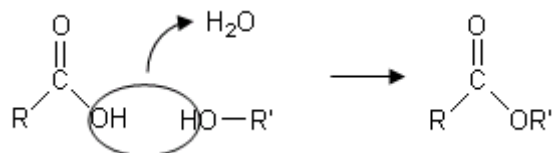


Come si può notare man mano che procede il processo ossidativo gli atomi di idrogeno vengono sostituiti da atomi di ossigeno. Inoltre per molti composti il grado di ossidazione è relativo. Infatti diremo che l'aldeide formica è più ossidata dell'alcool metilico, ma è più ridotta dell'acido formico.

Ritorniamo ora ai lipidi. Da un punto di vista chimico un lipide è formato dall'unione di un **acido carbossilico** con un **alcool** ed è quindi un **estere**.

Indichiamo un acido generico come **R-COOH** ed un alcool generico come **R'-OH**. La lettera R indica un radicale generico, un gruppo di atomi in catena carboniosa di cui, nel caso particolare, non interessa la composizione.

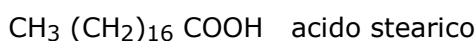
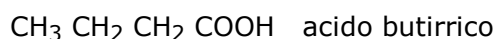
L'acido e l'alcol si uniscono utilizzando i rispettivi gruppi funzionali, tramite una reazione di condensazione detta **esterificazione**. Durante la reazione viene eliminata una molecola d'acqua tra l'ossidrilico del gruppo carbossilico e l'idrogeno del gruppo alcolico.



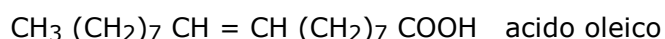
Anche i lipidi possono essere **idrolizzati** per ottenere gli acidi e gli alcoli di partenza.

I lipidi sono un sottoinsieme degli esteri, nel senso che gli esseri viventi utilizzano solo alcuni tipi di alcoli ed alcuni tipi di acidi organici (acidi grassi) per sintetizzare i lipidi.

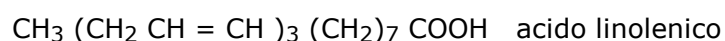
Negli **acidi grassi** il gruppo R è costituito da lunghe catene di atomi di carbonio (fino a 22) saturate da atomi di idrogeno



Alcuni acidi grassi contengono doppi legami tra atomi di carbonio lungo la catena. Ciascun doppio legame è dovuto alla mancanza di due atomi di idrogeno. Per questo motivo tali acidi grassi sono detti **insaturi** e, se vi è più di un doppio legame, **polinsaturi**. Un'esempio di acido insaturo è l'acido oleico



Un acido polinsaturo essenziale per l'alimentazione umana (il nostro organismo è incapace di sintetizzarlo) è l'acido linolenico

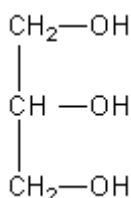


I lipidi si dividono in *lipidi semplici* (formati solo dall'unione di alcool e acido grasso) e *lipidi composti* (formati anche da una terza sostanza chimica).

2.3.1 Lipidi semplici

I lipidi semplici si dividono in *trigliceridi*, *ceridi* (o cere) e *steridi* (o lipidi steroidei). Ciascuno di questi tre gruppi è caratterizzato da un particolare alcool.

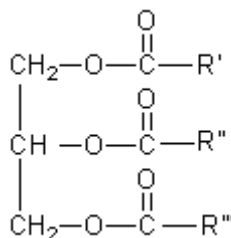
I **trigliceridi** sono caratterizzati dalla presenza dell'alcol **glicerolo** (o glicerina), un alcool triossidrile



Glicerolo

Per inciso se ossidiamo il glicerolo nel carbonio C₁, otteniamo l'aldeide glicerica.

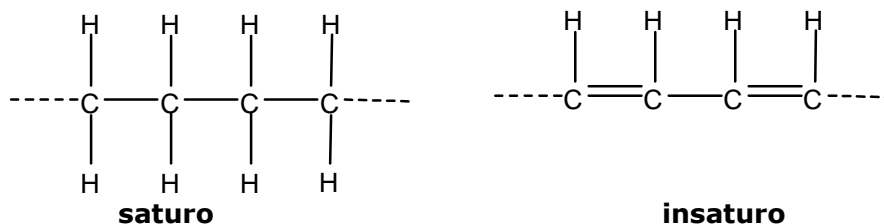
Facendo reagire i tre gruppi alcolici con tre acidi grassi, con perdita di tre molecole d'acqua si ottiene un trigliceride



I 3 acidi grassi possono essere dello stesso tipo o di tipo diverso.

I trigliceridi possono essere saturi o insaturi.

Sono saturi quando gli acidi grassi costituenti hanno tutti i legami saturati da atomi di idrogeno. Sono insaturi quando una o più coppie di atomi di carbonio adiacenti formano doppi legami a causa dell'assenza dell'idrogeno.



Ciò che distingue i vari acidi grassi tra loro, oltre alla lunghezza della catena, è il numero e la posizione dei doppi legami.

I trigliceridi sono composti fondamentali nella dieta umana e si ritrovano come componenti essenziali negli esseri viventi, dove costituiscono i principali lipidi di riserva e di deposito.

Quelli di derivazione vegetale sono in genere insaturi o polinsaturi. In queste condizioni essi sono liquidi a temperatura ambiente e vengono definiti **oli**.

Quelli di derivazione animale (lardo, burro etc) sono saturi e per questo motivo sono solidi a temperatura ambiente. Vengono definiti **grassi**.

Attraverso processi chimici è possibile saturare i trigliceridi insaturi (idrogenazione) ottenendo dei grassi vegetali spalmabili (*margarina*).

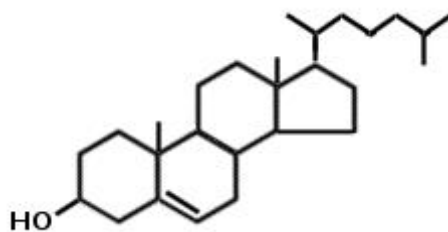
I **ceridi**, o semplicemente **cere**, sono caratterizzati dalla presenza di un alcool monoossidrilico a lunga catena carboniosa.

Ad esempio il costituente principale della cera d'api è il palmitato di miricile, formato dalla reazione dell'acido palmitico ($C_{15}H_{31}COOH$) con l'alcool mirilico ($C_{31}H_{63}OH$).

La cera carnauba, che si ricava dalle foglie di una palma sudamericana, è formata essenzialmente di cerotato di miricile (acido cerotico $C_{25}H_{51}COOH$ + alcool mirilico).

Le cere sono in genere utilizzate da piante ed animali per rendere impermeabili i loro rivestimenti esterni (le penne degli uccelli, la superficie esterna di molte foglie e frutti), per proteggere e mantenere morbidi e flessibili peli e cute.

Gli **steridi** o **lipidi steroidei** utilizzano come alcol uno *sterolo*. Tra gli steroli, il più importante è il *colesterolo*.



COLESTEROLO

Il **colesterolo** si trova nel nostro organismo sia libero (25 - 40 %) che esterificato da acidi grassi a lunga catena. In forma esterificata è uno dei costituenti principali degli steridi.

Il colesterolo è una molecola indispensabile al nostro organismo essendo un componente della membrana ed il precursore di importanti ormoni. Tuttavia si ritiene che un livello eccessivo di colesterolo nel sangue (ipercolesterolemia) costituisca un rischio di aterosclerosi, depositandosi in placche (ateromi, atheros = pericoloso, athera = poltiglia?) sulle pareti dei vasi sanguigni, diminuendone il lume e aumentando in tal modo il rischio di malattie cardiovascolari (infarti, ictus).

Il colesterolo viene in parte introdotto nell'organismo attraverso la dieta ed in parte sintetizzato dal fegato a partire dagli acidi grassi saturi. Il fegato è anche l'organo che demolisce il colesterolo in eccesso. Nel sangue il colesterolo viene trasportato da due tipi di proteine andando a formare i complessi LDL (Low Density Lipoprotein = a basso peso molecolare) ed HDL (High Density Lipoprotein = ad alto peso molecolare).

Le LDL trasportano il colesterolo alle cellule per il suo utilizzo. Le cellule presentano sulla loro membrana esterna dei recettori in grado di riconoscere la frazione proteica delle LDL. Dopo aver agganciato le LDL la membrana cellulare si inflette risucchiandole all'interno (endocitosi mediata da recettori). Se i recettori cellulari per le LDL mancano (per un difetto genetico) o sono alterati il colesterolo ematico è destinato ad aumentare in modo pericoloso.

Le HDL trasportano il colesterolo in eccesso al fegato per essere demolito ed escreto (attraverso la bile) fungendo così da "spazzini". Sembra che un elevato rapporto HDL/LDL diminuisca drasticamente il rischio di malattie cardiovascolari. Per questo motivo le HDL sono comunemente note come "colesterolo buono" e le LDL come "colesterolo cattivo". Il *rapporto HDL/colesterolo totale* è definito **indice di rischio cardiovascolare**. In un soggetto sano l'indice di rischio dovrebbe essere inferiore a 5 per i maschi e a 4,5 per le femmine.

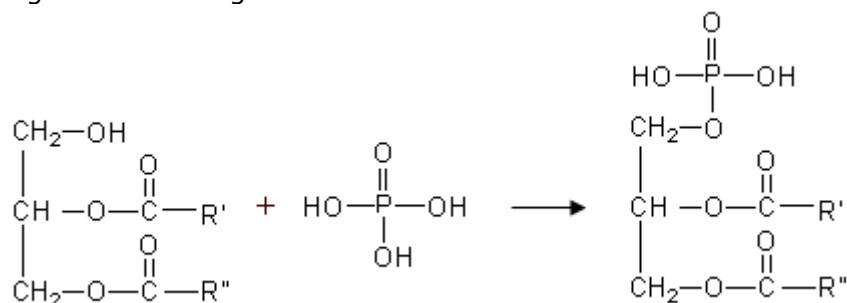
L'attività sportiva ed una dieta non troppo ricca di grassi saturi sembrano aumentare i livelli di HDL, mentre fumo e alcool li diminuiscono.

2.3.2 Lipidi composti

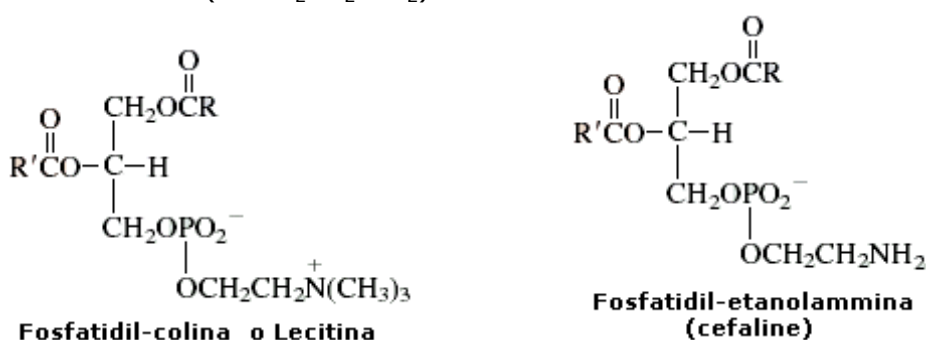
Sono formati da lipidi semplici in associazione con altre molecole.

Sono ad esempio lipidi composti le *lipoproteine*, proteine che trasportano i lipidi nel sangue come le HDL e le LDL o i *glicolipidi*, formati dall'unione di un lipide semplice (in cui l'alcol è in genere la sfingosina, un alcool amminato) con monosaccaridi, componenti essenziali delle membrane cellulari (soprattutto delle cellule nervose come i cerebrosidi, i gangliosidi ecc.).

Noi descriveremo in particolare i *fosfolipidi* o *fosfatidi*, lipidi semplici legati ad una molecola di acido fosforico (H_3PO_4). Nei *glicerofosfatidi*, ad esempio, l'acido fosforico sostituisce una delle molecole di acido grasso di un trigliceride.



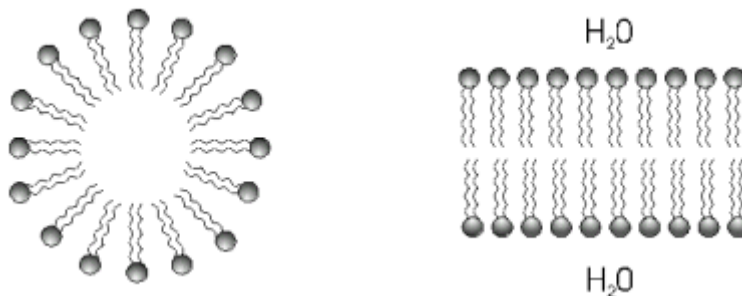
I **fosfolipidi** sono i costituenti fondamentali delle membrane biologiche. Ne esistono diversi tipi. Fra i più importanti sono da ricordare le **lecitine** e le **cefaline**, formati da glicerolo esterificato nelle prime due funzioni alcoliche da acidi grassi, e nella terza da una fosfatilammina, cioè un gruppo fosforico legato ad una ammina, come la colina ($\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{—N}^+(\text{CH}_3)_3$) o l'etanolanmina ($\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{—NH}_2$).



I fosfolipidi possiedono particolari caratteristiche di polarità che ne fanno dei costituenti fondamentali delle membrane cellulari (*lecitine*). L'acido fosforico è infatti polare mentre le due lunghe catene degli acidi grassi sono apolari. L'intera molecola viene solitamente rappresentata attraverso una "**testa idrofila**" che contiene il gruppo fosfato polare e due "**code idrofobe**", costituite dai residui degli acidi grassi apolari.



L'eteropolarità permette ai fosfolipidi di organizzarsi spontaneamente in acqua, formando strutture ordinate. Le teste tendono infatti a disporsi a contatto con l'acqua, mentre le code, respinte dalle interazioni idrofobiche, tendono a restare rivolte le une verso le altre. Si possono in tal modo formare strutture micellari sferoidali e lamine bistratificate.



2.4 Protidi

I **protidi** o **proteine** o **polipeptidi** sono le sostanze chimiche che svolgono i compiti più svariati all'interno della cellula. Possiamo comunque ricondurre le funzioni proteiche all'interno di due principali attività: a) strutturali o plastiche b) di regolazione o controllo.

Vi è una stretta correlazione fra forma e funzione delle proteine.

Le proteine con funzione plastica hanno una forma **fibrosa**. Sono costituite da catene polipeptidiche allungate, disposte in fasci lungo uno stesso asse a costituire le *fibres*. Sono insolubili in acqua.

Le proteine con funzione di regolazione e controllo hanno invece una forma **globulare**. Le catene sono strettamente avvolte in forma compatta, sferica o globulare, come un gomitolo. Sono solubili in acqua.

Esiste un numero enorme di proteine, una diversa dall'altra, sia all'interno di uno stesso organismo, sia tra organismi di specie diverse, ma tutte sono ottenute attraverso la combinazione di 20 mattoni chimici: gli **amminoacidi**. Il fatto che le proteine siano diverse e caratteristiche per ogni individuo e per ogni specie è legato al fatto che esse vengono sintetizzate a partire dalle informazioni genetiche contenute nel DNA

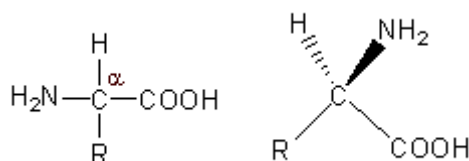
Oltre ai venti amminoacidi comuni a tutte le proteine di tutti gli esseri viventi, ve ne sono alcuni specifici di alcune proteine (l'*ossiprolina* del collagene) e alcuni che svolgono da soli azioni fisiologiche particolari (ormone *tiroxina*).

I 20 amminoacidi comuni a tutti gli esseri viventi si legano a formare lunghe catene proteiche, ognuna costituita da qualche centinaio di amminoacidi.

Il nostro organismo non è in grado di sintetizzare 8 amminoacidi, per questo detti **amminoacidi essenziali**, che devono essere pertanto introdotti con la dieta.

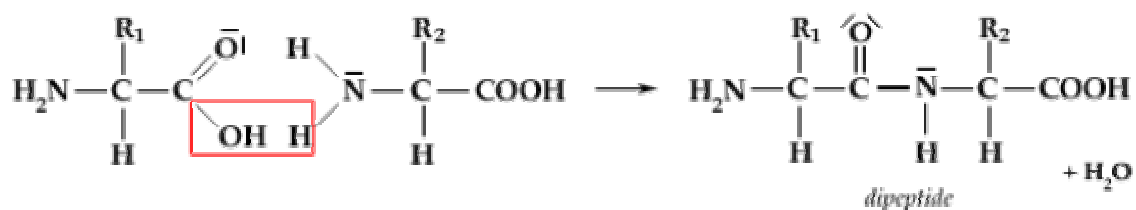
Tali amminoacidi sono particolarmente abbondanti nelle proteine di origine animale che, per questo motivo, sono dette "nobili", rispetto a quelle di origine vegetale.

Tutti gli amminoacidi che costituiscono le proteine presentano la seguente struttura generale



Un carbonio centrale tetraedrico (detto **carbonio alfa**) al quale è legato un gruppo amminico ($-\text{NH}_2$) di natura basica, un gruppo carbossilico ($-\text{COOH}$) di natura acida, un atomo di idrogeno ed un gruppo chimico ($-\text{R}$), detto **residuo amminoacidico** o **gruppo R**, diverso da amminoacido ad amminoacido.

Gli amminoacidi si legano tra loro a formare le proteine tramite un legame di condensazione, facendo reagire il gruppo amminico di un amminoacido con il gruppo carbossilico di un altro, con perdita di una molecola di acqua.

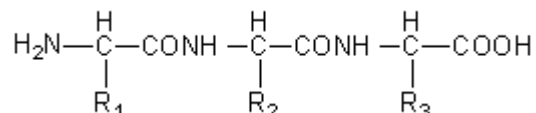


Il legame che si produce è detto **legame peptidico** ed il gruppo chimico CONH è detto **gruppo peptidico**.



gruppo peptidico

In questo modo tutte le proteine si presentano costituite da un lungo filamento chimico comune, formato dalla successione di gruppi CH e CONH, dal quale sporgono i residui amminoacidici (-R), la cui successione è diversa da proteina a proteina. Tale successione definisce la peculiare struttura primaria di una proteina.

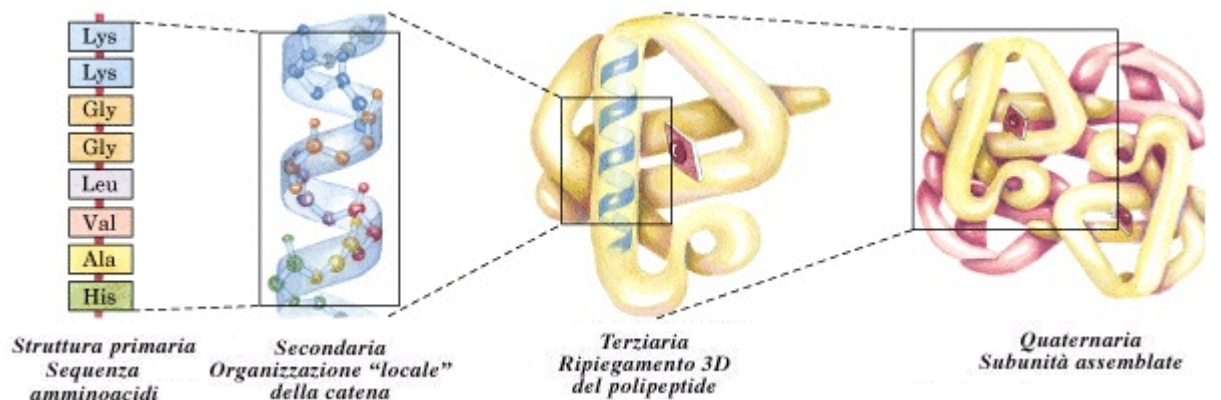


Convenzionalmente la struttura primaria si rappresenta iniziando con il gruppo amminico e terminando con il gruppo carbossilico. Il primo amminoacido della sequenza è detto **amminoacido N-terminale** (*enne-terminale o ammino-terminale*), l'ultimo **amminoacido C-terminale** (*ci-terminale o carbossi-terminale*).

Sequenze di pochi amminoacidi (50 - 100) sono dette *peptidi*. Oltre un certo limite (diverso da autore ad autore: PM \approx 5.000 - 10.000 uma) si parla di polipeptidi.

I filamenti proteici non rimangono mai lineari. Rispondendo alle sollecitazioni prodotte dalle loro polarità interne si ripiegano su se stessi formando strutture a diverso grado di complessità. Sono stati descritti per le proteine 4 livelli strutturali principali.

- La struttura primaria è costituita dalla successione degli amminoacidi
- La struttura secondaria è definita dai tipi di avvolgimenti (stabilizzati da ponti idrogeno) che interessano tratti del filamento proteico (Eliche, Foglietti e Curve)
- La struttura terziaria è definita dal modo in cui il filamento proteico si ripiega su se stesso in una conformazione compatta di tipo globulare contenente le diverse strutture secondarie
- La struttura quaternaria si genera quando diverse molecole proteiche in struttura terziaria globulare si saldano tra loro, assemblandosi



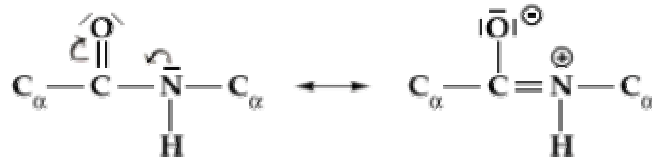
2.4.1 Struttura primaria

Ogni proteina si differenzia dalle altre essenzialmente per la sua struttura primaria, cioè per la particolare sequenza di amminoacidi che la caratterizza.

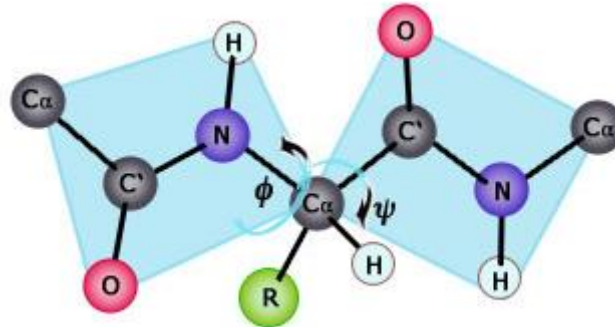
2.4.2 Struttura secondaria

Non appena un filamento proteico viene sintetizzato esso passa subito in struttura secondaria. Tale struttura si produce grazie alla possibilità di rotazione dei gruppi CH rispetto ai gruppi peptidici (CONH) lungo tutto il filamento.

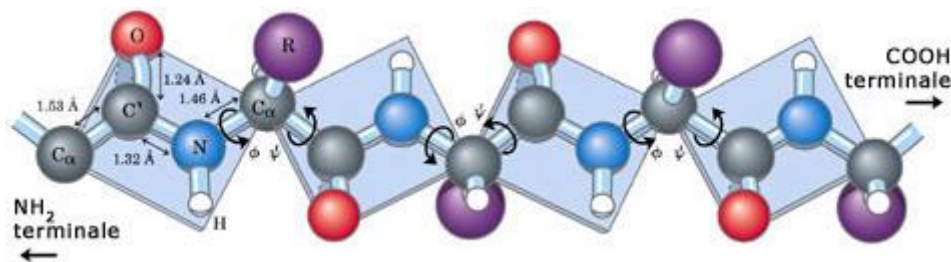
La rotazione è invece impedita lungo il legame peptidico C-N che presenta un parziale carattere di doppio legame (vi è risonanza tra il doppio legame C=O ed il legame singolo C-N).



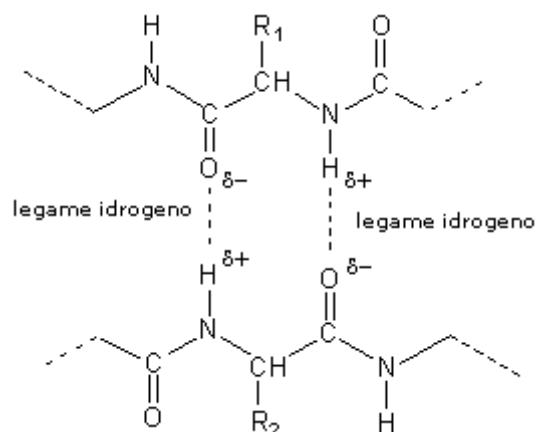
Gli atomi del gruppo peptidico (CONH) giacciono tutti su di un medesimo piano. Questi piani possono ruotare rispetto al carbonio-alfa. In questo modo, ogni piano delle unità peptidiche ha due rotazioni possibili: una intorno al legame tra il carbonio-alfa e l'atomo di azoto del gruppo peptidico $\text{C}_\alpha\text{-N}$ (angolo di rotazione Φ , fi), l'altra intorno al legame tra l'atomo di carbonio-alfa e l'atomo di carbonio del gruppo peptidico $\text{C}_\alpha\text{-C'}$ (angolo di rotazione ψ , psi).



Tali rotazioni permettono al filamento proteico di avvolgersi su se stesso secondo schemi diversi, raggiungendo una struttura finale stabile.



Vi sono diversi tipi di configurazioni secondarie, tutte rese stabili da ponti idrogeno che si instaurano tra i gruppi peptidici che la torsione interna del filamento porta uno di fronte all'altro (l'idrogeno fa da ponte tra due elementi molto elettronegativi: l'azoto e l'ossigeno).

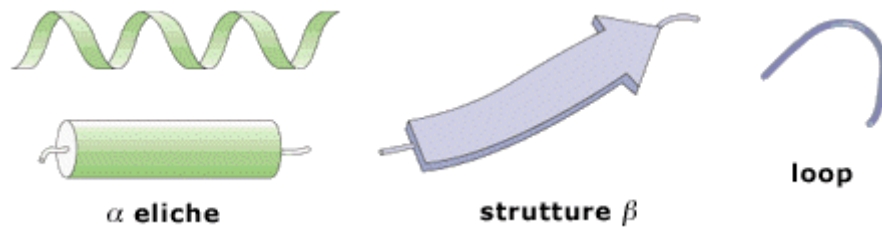


Ma per motivi di reciproco ingombro sterico dei grossi gruppi laterali R e affinché sia ottimizzata la stabilizzazione del filamento attraverso la formazione di legami Idrogeno intracatena, gli angoli ψ e Φ possono assumere solo determinati valori e di conseguenza il filamento proteico assume solo certe configurazioni secondarie. In altri termini, ogni struttura secondaria è caratterizzata da particolari valori degli angoli ψ e Φ .

In sintesi, sono dunque due i fattori che determinano la struttura secondaria di una proteina e che hanno l'effetto di rendere minima l'energia potenziale della molecola:

- minimizzazione dell'ingombro sterico fra i gruppi R
- ottimizzazione della formazione di legami H intracatena

Il risultato di queste restrizioni fa sì che gli elementi di struttura secondaria si possano ricondurre sostanzialmente a tre sole diverse tipologie stabili: alfa-elica, foglietto-beta e ripiegamenti (loop). Nelle rappresentazioni proteiche schematiche questi tre elementi strutturali vengono visualizzati rispettivamente come spirali (o cilindri), frecce e fili curvilinei

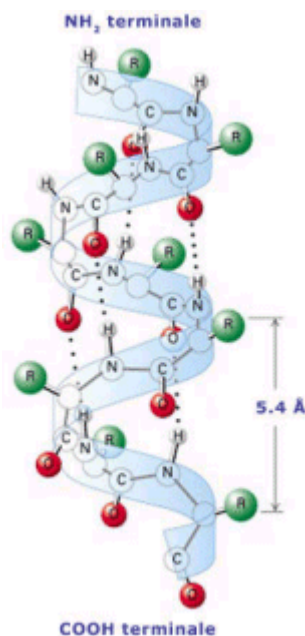


a) Struttura secondaria ad elica (helix)

Nelle proteine possono esistere diverse conformazioni ad elica, ma tra queste la più rappresentativa è certamente l'alfa-elica (α elica).

L'**alfa-elica** è il risultato della conformazione secondaria probabilmente più "naturale" che una catena peptidica possa assumere e rappresenta pertanto l'elemento di struttura secondaria più comune nelle proteine.

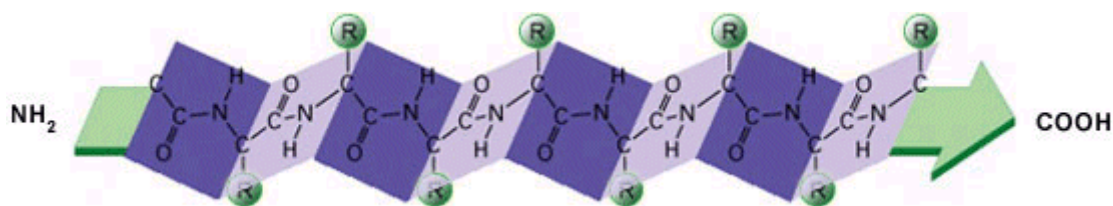
Il filamento proteico si avvolge a formare una spirale (una specie di molla) resa stabile dai ponti idrogeno che si formano tra spira e spira. In un'alfa-elica, i legami ad idrogeno dello scheletro sono organizzati in modo che il C=O dell'ennesimo gruppo peptidico punti verso l'N-H del $(n+4)^{mo}$ gruppo peptidico. Ciò produce un forte ponte ad idrogeno che presenta una lunghezza N---O quasi ottimale di 2,8 Å



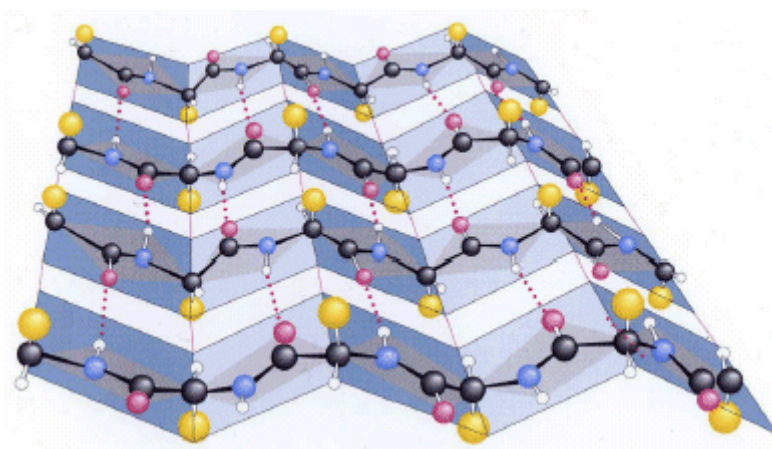
I residui amminoacidici (-R) sporgono esternamente al filamento spiralizzato (elica). La distanza tra spira e spira (passo) è di 5,44 Å, il raggio dell'elica è di 2,3 Å ed in ogni spira sono presenti 3,67 amminoacidi (Pauling e Corey). L' alfa-elica presente nelle proteine è quasi sempre **destrorsa**

b) Struttura secondaria a foglietto beta (β -sheet)

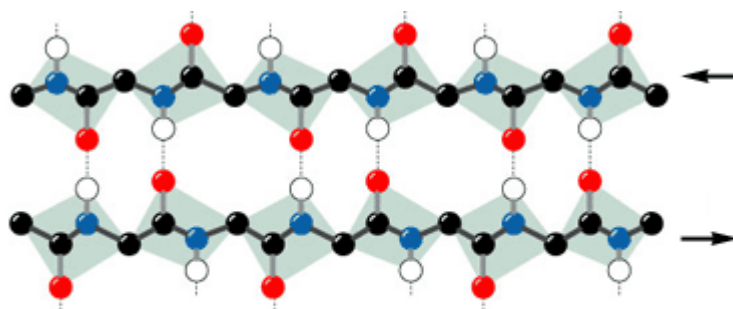
Nella struttura secondaria beta il filamento proteico (**strand**) presenta un andamento a zig-zag. Le configurazioni beta per il loro andamento caratteristico vengono anche dette a **foglio pieghettato** (*pleated sheet*). I gruppi peptidici formano le pagine del foglio, mentre gli atomi di carbonio tetraedrico ($C\alpha$) formano le pieghe con i residui amminoacidici che si presentano alternati sempre in corrispondenza della parte convessa della piega.



Molto spesso nelle proteine, due o più filamenti beta (β -strands) tendono ad affiancarsi lateralmente ed a legarsi tramite ponti a idrogeno, generando strutture estese, pieghettate, dette **foglietti β** .

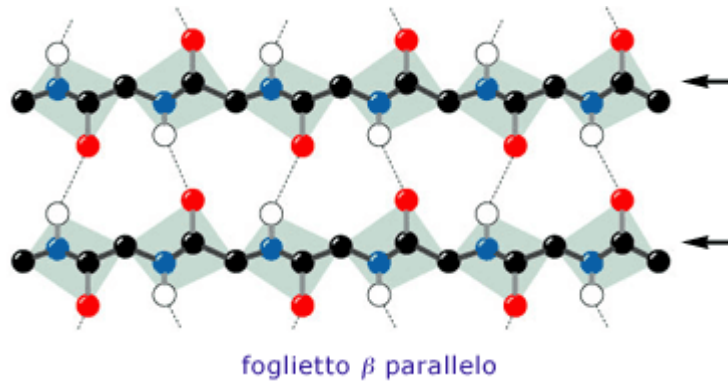


Nei foglietti β , i filamenti possono essere orientati reciprocamente in senso **antiparallelo** o **parallelo**. In quest'ultimo caso, i foglietti sono meno stabili e si incontrano pertanto più raramente nella struttura delle proteine.



foglietto β antiparallelo

La "geometria" dei legami a idrogeno è diversa a seconda che questi uniscano filamenti con orientamento antiparallelo o parallelo. Nel primo caso sono perpendicolari all'asse dei filamenti (e risultano quindi ottimali per direzionalità) e più corti.



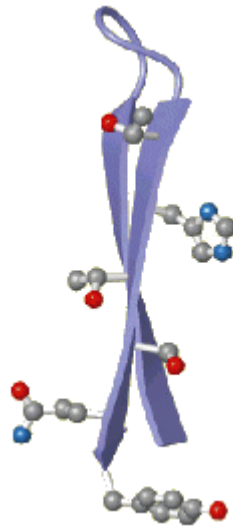
L'orientamento indicato dalle frecce è quello convenzionale, ovvero nella direzione $\text{NH}_2 \rightarrow \text{COOH}$



Collegamenti fra 2 filamenti (strands) in un foglietto beta

- a) una piccola curva (loop) collega due filamenti paralleli
- b) un collegamento incrociato collega due filamenti paralleli

Normalmente i foglietti β non sono planari, ma tendono ad assumere nell'insieme una forma *incurvata* e lievemente "avvitata".



Torsione destrorsa di due filamenti in un foglietto beta

c) Strutture secondarie: Ripiegamenti (turn) ed anse (loop)

Oltre ai due elementi regolari di struttura secondaria appena descritti, nelle proteine sono presenti tratti di catena coinvolti in ripiegamenti "a gomito" che invertono la direzione della catena polipeptidica permettendole di ripiegarsi nella struttura terziaria.

Questi tratti, definiti **ripiegamenti** ed **anse**, fanno da collegamento fra alfa-eliche o filamenti β ed hanno un ruolo assai importante nella organizzazione 3D della catena peptidica (struttura terziaria). Nelle proteine in struttura terziaria queste configurazioni curvilinee arrivano a rappresentare circa un terzo delle strutture secondarie presenti.

Molto comuni sono le brevi curve di 3-5 residui (**β -turns**) che collegano due filamenti β consecutivi, orientati in modo antiparallelo.

In queste strutture secondarie curvilinee è quasi costante la presenza degli amminoacidi *glicina* e/o *prolina*.

La **glicina**, presentando un Idrogeno come gruppo R e quindi un limitato ingombro sterico, può assumere angoli ψ e Φ non consentiti ad altri amminoacidi. La glicina può così avere un ruolo importante nella struttura proteica, potendo far assumere alla catena angolazioni "*insolite*".

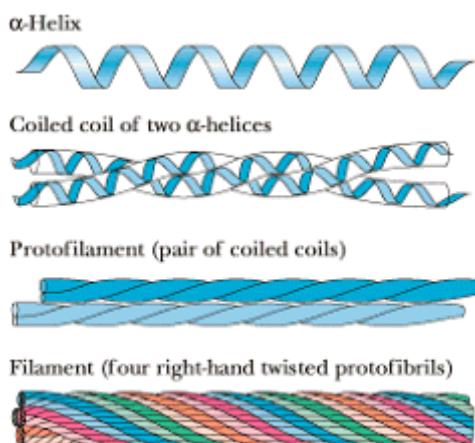
La **prolina** è in realtà un *imminoacido* poichè al posto del gruppo amminico $-NH_2$, presenta il gruppo imminico $-NH-$. Quando la prolina entra a far parte di una proteina il gruppo imminico perde il suo unico idrogeno nella formazione del legame peptidico. In questo modo non si forma un gruppo peptidico $CONH$, ma un gruppo CON . In tali condizioni non può dunque formarsi il legame idrogeno e le strutture secondarie regolari (eliche e foglietti) risultano instabili in corrispondenza dei punti in cui si trova la prolina.

2.4.3 Le proteine filamentose o fibrose

Le proteine sono state classificate storicamente in **fibrose** (o filamentose) e **globulari**, in relazione alla loro morfologia generale. Questa suddivisione è legata ai vecchi metodi utilizzati per la determinazione della struttura della proteina su scala atomica e non fa giustizia delle proteine che contengono sia regioni estese e filamentose che regioni più compatte, altamente ripiegate e globulari. Tuttavia tale classificazione permette di sottolineare le proprietà delle proteine fibrose, insolubili, che hanno spesso un ruolo protettivo, connettivo o plastico negli organismi viventi. Le proteine fibrose meglio caratterizzate, la **cheratina**, la **miosina**, la **fibroina** ed il **collagene**, sono molecole allungate la cui conformazione è dominata da un singolo tipo di struttura secondaria. Sono quindi esempi utili di questi elementi strutturali.

Le **cheratine** sono il componente fondamentale degli annessi cutanei degli animali (capelli, peli, unghie, corna strati superficiali della pelle, piume, etc.)

L'unità della cheratina è costituita da una coppia di alfa-eliche destrorse strettamente **superavvolte** (*coiled-coil*) in senso sinistrorso e rinforzate da numerosi *ponti disolfuro* intercatena.



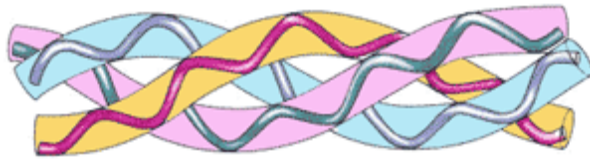
A loro volta queste unità si avvolgono fra loro a formare strutture di ordine superiore (protofilamenti, protofibrille e filamenti).

Uno schema tipico è il "9 + 2", con due protofibrille centrali circondate in modo regolare da nove protofibrille a formare un filamento. Un singolo capello è formato da numerosi di questi filamenti.

Il **collagene** è una proteina che per le sue eccezionali doti di resistenza alla trazione va a costituire gran parte del tessuto connettivo (tendini, cartilagini, derma, etc). L'unità fondamentale del collagene, il **tropocollagene**, è una struttura elicoidale superavvolta (*coiled-coil*) con andamento **destrorso**, formata da tre catene polipeptidiche (**tripla elica**), ciascuna delle quali ha una struttura secondaria ad elica **sinistrorsa** (elica del collagene), diversa dall'alfa-elica.

L'elica del collagene, oltre ad essere sinistrorsa, è infatti più "*stirata*" (ha un passo quasi doppio rispetto all'alfa-elica) ed ha un diametro inferiore, avendo solo tre residui amminoacidici per giro.

Ogni singola catena è formata da circa 1000 amminoacidi ed è pressoché completamente avvolta ad elica.



La torsione opposta delle eliche (simile a quella di una fune ritorta) conferisce al collagene notevoli proprietà di rigidità, un elevato carico di rottura e la possibilità di mantenere costante la sezione sotto tensione.

La struttura tipica dell'elica del collagene è dovuta alla particolare sequenza amminoacidica delle catene, che è costituita per oltre un terzo da *glicina* e per almeno un quinto da *prolina* e *idrossiprolina*.

Esistono diversi tipi di collagene, ma in tutti quanti si ritrova una ripetizione monotona di triplette con sequenza **Gly-X-Y**, in cui **X** è spesso *Prolina* e **Y** è spesso *Idrossiprolina*.

Ogni "terzo" residuo della catena è quindi una glicina e solo questa presenza, in questa posizione, rende possibile il superavvolgimento estremamente compatto della tripla elica.

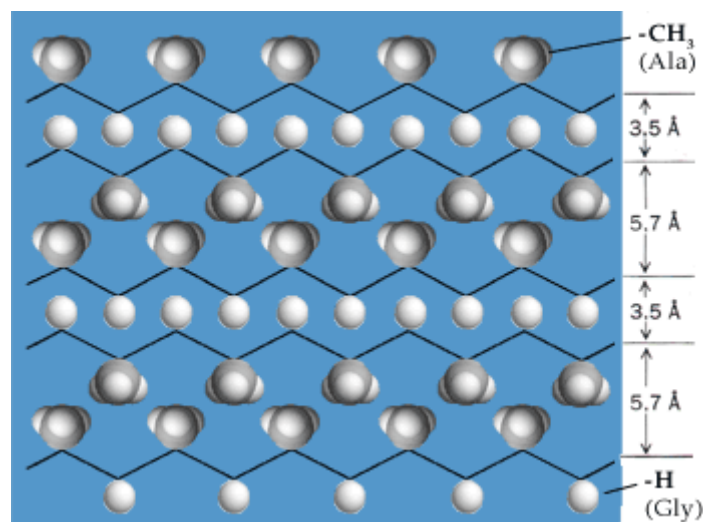
Le unità del tropocollagene si organizzano in fibre, disponendosi in maniera *sfalsata*, parallelamente, lungo l'asse della fibra. La fibra è resa ancor più resistente e rigida dalla formazione di legami crociati, di tipo covalente, che si instaurano fra residui di lisina o di istidina delle unità e anche all'interno della stessa unità, tra le singole catene polipeptidiche.

Il collagene cambia facilmente di forma se riscaldato. Diventa solubile e forma facilmente soluzioni colloidali (collagene = che genera colla).

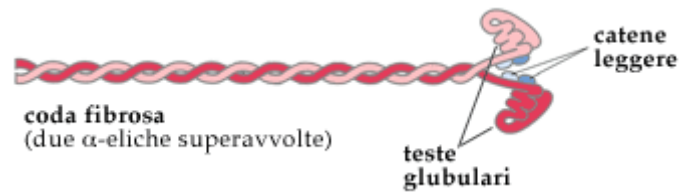
La fibroina è la proteina della *seta*. A differenza di collagene e cheratina, la fibroina ha una **struttura beta**, organizzata in estesi foglietti, pieghettati a ventaglio.

La fibroina è ricchissima di *alanina* e *glicina*, che si alternano nella sequenza primaria.

Ciò consente ai foglietti β di disporsi in *piani sovrapposti*, ravvicinati e compatti, tenuti insieme da deboli interazioni apolari fra i residui laterali di alanina e glicina. Questa particolare organizzazione rende la seta morbida e flessibile.



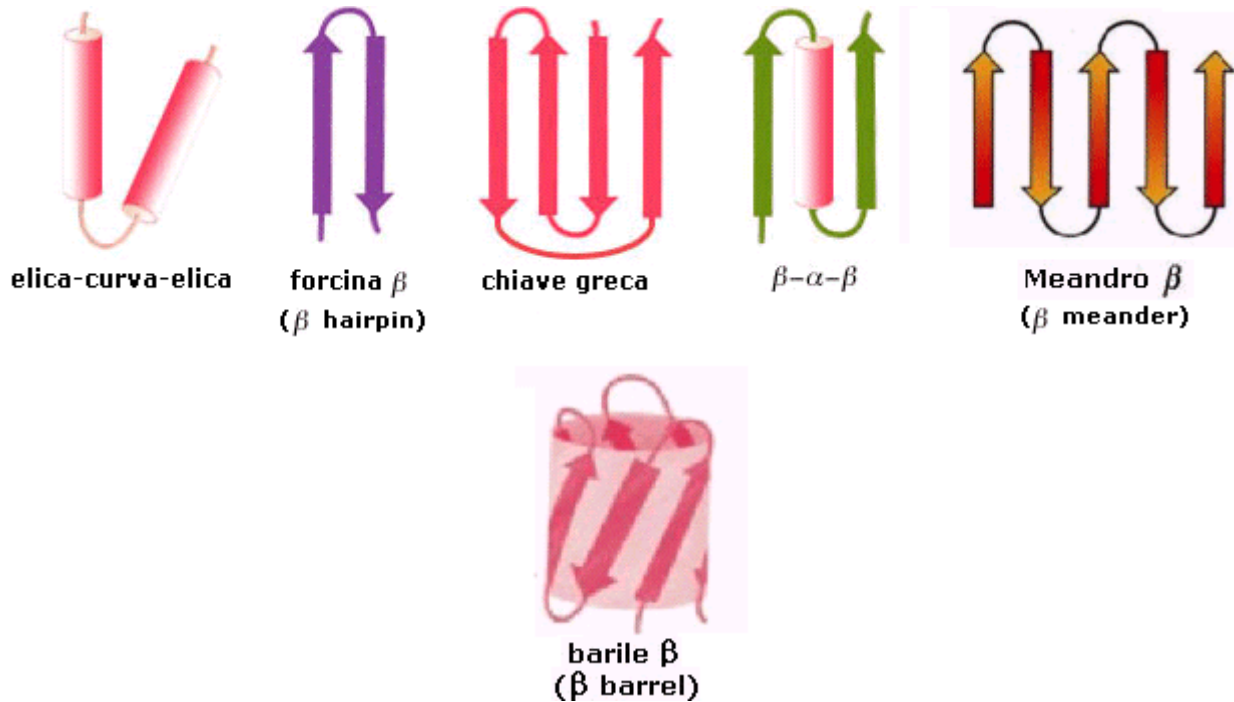
La **miosina**, una delle due proteine che costituiscono le fibre muscolari, ha una struttura mista: è costituita da *due catene pesanti*, che si organizzano in una lunga coda *fibrosa* (costituita da due alfa-eliche superavvolte) e in due teste *globulari*, alla cui composizione concorrono anche *quattro catene leggere*.



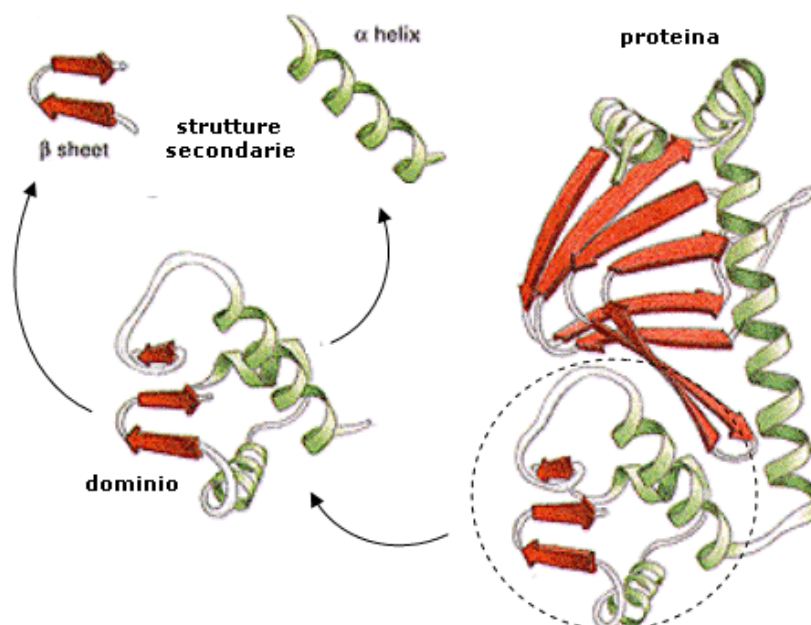
Strutture supersecondarie: motivi e domini

Praticamente in tutte le proteine di cui sia nota la struttura 3D, gli elementi fondamentali di struttura secondaria si trovano combinati in particolari **motivi strutturali** di struttura supersecondaria.

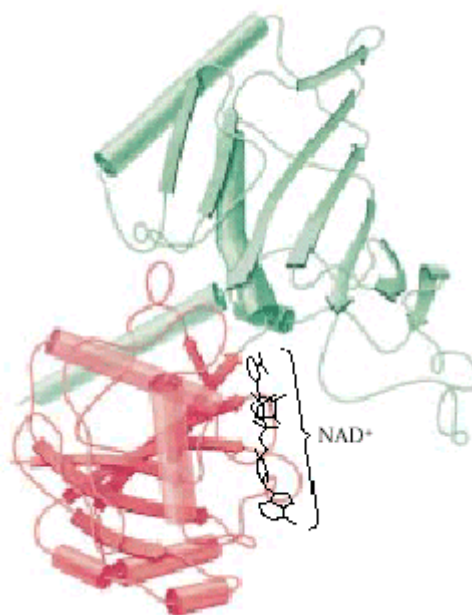
I motivi strutturali più ricorrenti sono i seguenti:



Le catene proteiche che contengono più di 200 residui amminoacidici si piegano solitamente in due o più agglomerati globulari noti come **dominii**, che danno a queste proteine un aspetto bi- o multilobato.



I domini sono in genere formati dall'aggregazione di diverse strutture secondarie ed hanno spesso una funzione specifica come il riconoscimento sterico di una piccola molecola.



Gliceraldeide 3-fosfato deidrogenasi

Il dominio in rosso lega il NAD⁺

Il dominio in verde lega la gliceraldeide

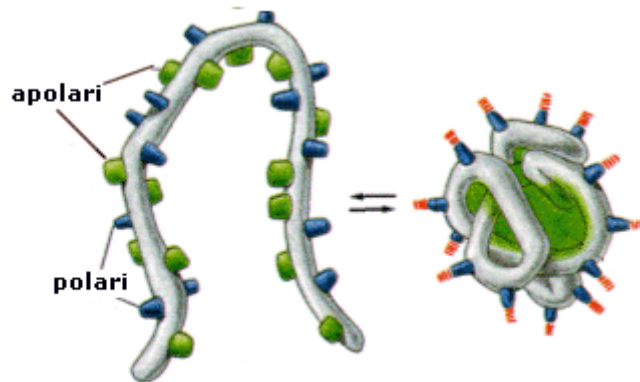
2.4.4 Struttura terziaria: le proteine globulari

La maggior parte delle proteine, dopo aver raggiunto la struttura secondaria, subisce un ulteriore processo di torsione. Avvolgendosi ulteriormente su se stesse, tali proteine formano una specie di matassa globulare, caratteristica della struttura terziaria, detta **struttura nativa**. Per la loro configurazione compatta le proteine in struttura terziaria vengono dette **proteine globulari**.

Il processo di ripiegamento (**folding**) dei filamenti secondari è reso possibile dalla formazione di snodi lungo il filamento stesso.

Come abbiamo visto, tra le cause alla base della formazione di tali snodi o gomiti vi è la presenza dell'amminoacido prolina. La prolina è in realtà un imminoacido poichè al posto del gruppo amminico -NH₂, presenta il gruppo imminico -NH-. Quando la prolina entra a far parte di una proteina il gruppo imminico perde il suo unico idrogeno nella formazione del legame peptidico. In questo modo non si forma un gruppo peptidico CONH, ma un gruppo CON. In tali condizioni non può dunque formarsi il legame idrogeno e la struttura secondaria risulta quindi instabile in corrispondenza dei punti in cui si trova la prolina.

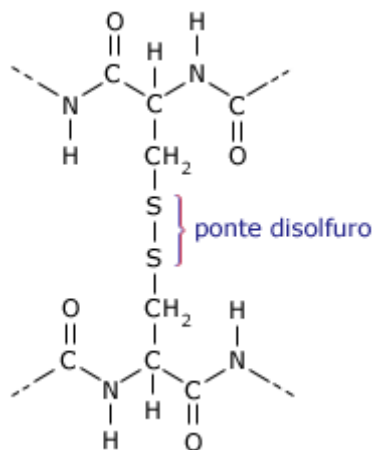
Le articolazioni che in tal modo si formano (**ripiegamenti** ed **anse**) consentono a tratti diversi del filamento secondario di avvicinarsi reciprocamente interagendo attraverso i residui amminoacidici. Le interazioni idrofile ed idrofobiche tra i residui, e tra questi e l'acqua in cui le proteine normalmente si trovano, costringono il filamento proteico a contorcersi. La proteina si aggroviglia fino a raggiungere una forma a globulo, in cui i residui amminoacidici polari si trovano alla superficie (a contatto con l'acqua), mentre i residui amminoacidici apolari si introflettono all'interno del globulo. Tale disposizione, diminuendo il rapporto superficie/volume e concentrando i gruppi polari sulla superficie esterna, rende in genere solubile la proteina.



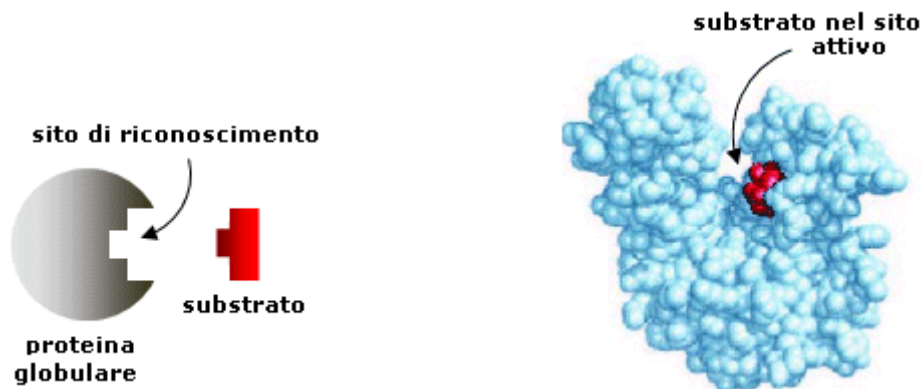
La struttura globulare viene poi ulteriormente stabilizzata da legami interni alla molecola. Tra questi tipi di interazioni, le più frequenti sono:

- L'**effetto idrofobico**, che induce le sostanze non polari a minimizzare i loro contatti con l'acqua, è la causa principale della stabilità della struttura nativa della proteina.
- Formazione di **legami ionici** tra residui amminoacidici carichi positivamente (lisina, istidina, arginina) e residui carichi negativamente (ac. aspartico, ac. glutammico). Circa il 75% dei residui elettricamente carichi nelle proteine appartengono a coppie ioniche e sono localizzati prevalentemente sulla superficie della proteina con formazione di coppie ioniche
- Formazione di "**ponti salini**" dati da un catione metallico coordinato da due o più ioni carbossilati
- Legami ad idrogeno
- Ponti disolfuro

Particolarmente diffusi sono i **ponti disolfuro** (-S-S-) che si formano tra due gruppi solfidrilici -SH (il gruppo solfidrile è presente solo nell'amminoacido **cisteina**).



In tal modo una proteina globulare risulta particolarmente irregolare, presentando una superficie ricca di incavi, anfrattuosità e sporgenze. Ogni proteina globulare presenta delle irregolarità caratteristiche (**sito attivo** o **sito di riconoscimento**) che utilizza in modo peculiare per riconoscere una specifica sostanza chimica (**substrato**) ed effettuare su di essa azioni biologiche specifiche. Il riconoscimento è altamente selettivo ed avviene secondo un **modello chiave-serratura**.



E' per questo motivo che ogni cambiamento di struttura e quindi di forma può sconvolgere completamente la funzionalità proteica. Ad esempio le variazioni di pH, modificando la distribuzione di polarità nei residui amminoacidici, possono influenzare drasticamente il modo in cui una proteina si ripiega su se stessa, modificandone la struttura.

Per le loro caratteristiche di solubilità e per l'azione di riconoscimento altamente specifica, le proteine globulari svolgono negli organismi importantissime funzioni di regolazione, di controllo e di trasporto. Vediamone alcuni esempi.

1) Gli **anticorpi**, prodotti da particolari globuli bianchi (linfociti), sono in grado di riconoscere ed agganciare sostanze estranee e potenzialmente pericolose (**antigeni**), consentendo all'organismo di eliminarle.

2) Gli **enzimi** sono dei **catalizzatori biologici**, molecole in grado di riconoscere, agganciare e modificare chimicamente una sostanza chimica (reagenti), aumentando la velocità con cui la reazione avviene.

Come tutti i catalizzatori anche gli enzimi non si consumano durante la reazione, ma si ritrovano inalterati al termine di ciascun ciclo di catalisi. E' per questo motivo che essi risultano efficaci anche in piccolissime concentrazioni.

Ogni enzima riconosce in modo specifico il suo substrato ed esiste quindi un enzima specifico per ogni reazione che deve avvenire in una cellula.

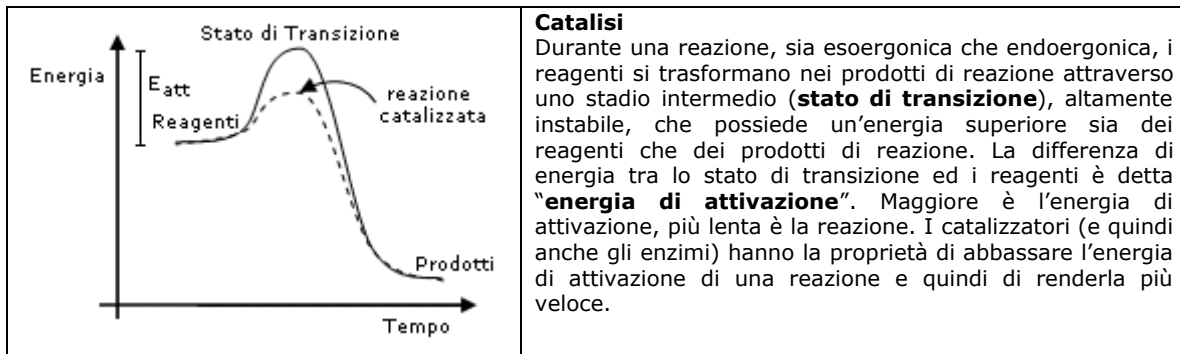
Senza gli enzimi la maggior parte delle reazioni all'interno delle cellule sarebbe talmente lenta da non essere compatibile con la sopravvivenza dell'organismo.

Attraverso gli enzimi inoltre, la cellula controlla in un dato momento quali reazioni devono essere eseguite e quali no. In tal modo gli enzimi funzionano come veri e propri interruttori biologici: quando l'enzima è presente la reazione avviene, quando l'enzima è eliminato la reazione rallenta al punto da produrre effetti trascurabili.

In genere gli enzimi catalizzano le reazioni legandosi temporaneamente con altre molecole dette **coenzimi** o **cofattori**. Molto spesso i coenzimi non sono molecole proteiche. La parte non proteica di una proteina composta è detta gruppo prostetico. Molti coenzimi derivano chimicamente dalle **vitamine**, molecole indispensabili al nostro metabolismo che dobbiamo giornalmente introdurre in piccole dosi tramite l'alimentazione.

Mentre gli enzimi riconoscono la sostanza da catalizzare (specificità di substrato), il coenzima effettua su di essa la modificazione chimica (specificità di azione). Uno stesso coenzima può legarsi ad enzimi diversi, conservando la sua specificità di azione ed effettuando così la stessa reazione su substrati diversi. Gli enzimi hanno desinenza **-asi**.

Famiglia	Reazione catalizzata
Ossidoreduttasi	Ossidoriduzioni
Transferasi	Trasferimento gruppi chimici
Idrolasi	Idrolisi
Liasi	Addizione a doppio legame
Isomerasi	Conversione tra isomeri
Ligasi	Formazione legami con consumo ATP



3) Gli **ormoni** sono molecole secrete nel sangue dalle nostre ghiandole endocrine (le ghiandole esocrine secernono fuori dal sangue). Esistono ormoni proteici ed ormoni steroidei (derivati dal colesterolo). Gli ormoni hanno il compito di regolare svariate funzioni di cellule, tessuti ed organi, inibendole o stimolandole. Ogni ormone deve essere in grado di "riconoscere" specificatamente il tipo di cellule sulle quali agire (**cellule bersaglio**). Per questo motivo le cellule presentano sulla loro membrana esterna particolari molecole di riconoscimento (**recettori di membrana**) che rappresentano il substrato al quale si lega il sito attivo dell'ormone.

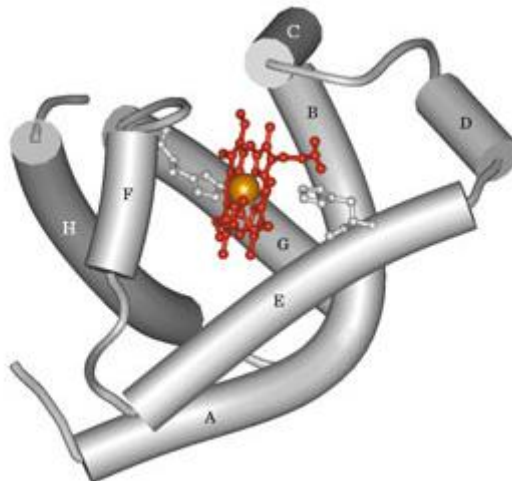
4) Le **proteine di trasporto** (carriers) sono in grado di agganciare e trasportare specifiche sostanze chimiche. Alcune di queste proteine sono disciolte nel sangue e trasportano sostanze per via ematica. Altre sono immerse nella membrana cellulare (proteine transmembratiche o integrali) e permettono alla cellula di scambiare sostanze con l'ambiente esterno. Queste ultime si dividono in pompe e canali. Le **pompe** consumano energia per effettuare il trasporto (**trasporto attivo**), mentre i **canali** sono in grado di trasportare sostanze attraverso la membrana senza consumare energia (**trasporto passivo**).

La **Mioglobina** è un esempio classico di proteina globulare di trasporto. Svolge la propria funzione nel muscolo, dove costituisce una riserva di ossigeno, prontamente disponibile per le fibre muscolari. E' un esempio di proteina *coniugata* che, a differenza delle proteine semplici, contiene un gruppo prostetico di natura non proteica: il gruppo **ferro-eme**, deputato al legame dell'O₂.

La mioglobina è una proteina relativamente piccola, costituita da 153 amminoacidi. Quasi l'80% della catena polipeptidica ha una struttura ad α -elica.

Nella conformazione 3D sono riconoscibili otto distinte strutture ad α -elica (A, B, C, D, E, F, G, H, in direzione N \rightarrow C), ripiegate in modo apparentemente irregolare, ma caratteristico e tale da creare una tasca idrofobica che accoglie il gruppo prostetico *ferro-eme*.

È probabile che l'idrofobicità della tasca che ospita il gruppo eme sia di estrema importanza per il mantenimento dello stato ridotto dello ione Fe²⁺ e quindi della funzionalità della proteina. Lo ione Fe³⁺ è infatti incapace di legare l'ossigeno ed è stato osservato che il Fe²⁺-eme *libero in soluzione* ha una spiccata tendenza ad ossidarsi spontaneamente a Fe³⁺.



Il **gruppo eme** è un *complesso coordinato*, formato da una porfirina sostituita (*protoporfirina IX*) e lo ione Fe²⁺.

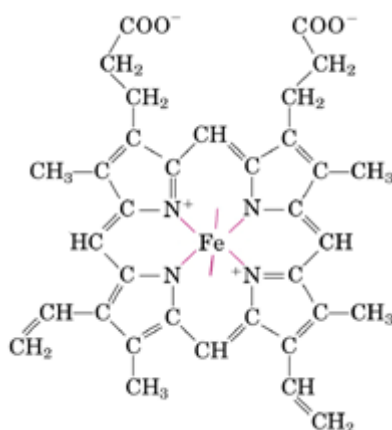
La *porfirina* presenta una struttura planare costituita da quattro anelli di **pirrolo** (un eterociclo pentatomico contenente un atomo di azoto), uniti da ponti metinici (-CH-).

Lo ione Fe^{2+} si trova al centro della struttura, legato con quattro dei suoi sei legami di coordinazione ai quattro atomi di azoto del tetrapirrolo.

Legandosi con un altro legame di coordinazione ad un residuo di *istidina* (detta F8, perché è nell'ottava posizione dell'elica F), il Fe è ancora saldamente alla proteina l'intero gruppo eme.

Il sesto legame di coordinazione del Fe è quello che lega la molecola di O_2 . Al legame dell'ossigeno *contribuisce* anche una istidina (E7), mediante un ponte Idrogeno.

Oltre che nella mioglobina, l'eme è presente nell'emoglobina e nei citocromi (proteine che trasportano elettroni nella catena respiratoria), nella clorofilla e nella vitamina B_{12} . In queste due ultime molecole il Fe è tuttavia sostituito rispettivamente da Mg e Co.



Il gruppo eme

5) I **marcatori** ed i **recettori** sono particolari proteine di membrana, che permettono alla cellula di scambiare segnali chimici con l'ambiente esterno. I recettori sono in grado di ricevere informazioni agganciandosi con molecole esterne come gli ormoni o i neurotrasmettitori secreti dalle cellule nervose (neuroni). I marcatori sono molecole che le cellule espongono come segnali chimici per altre cellule. Ne sono un tipico esempio i marcatori che le cellule del nostro organismo espongono per farsi riconoscere e non farsi attaccare dalle cellule del nostro sistema immunitario.

2.4.5 Struttura quaternaria

Per buona parte delle proteine, la struttura terziaria rappresenta l'*ultimo* livello di organizzazione strutturale.

È il caso delle proteine cosiddette monomeriche, costituite cioè da un'unica unità funzionale, biologicamente attiva.

Molte altre proteine (ad esempio, un gran numero di enzimi), nella loro forma attiva sono invece costituite dall'associazione di due o più unità di struttura terziaria (dette monomeri o **subunità**), uguali (proteine omo-oligomeriche) o diverse (proteine etero-oligomeriche).

Si parla in tal caso di struttura quaternaria, per riferirsi all'organizzazione multimerica della proteina.

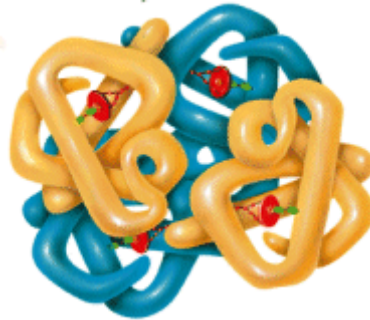
Nella struttura quaternaria, le subunità sono tenute insieme da interazioni generalmente non covalenti, spesso di natura idrofobica.

Raramente, più catene peptidiche sono unite da legami covalenti, come accade ad esempio nelle immunoglobuline (una classe di anticorpi), in cui le catene leggere e pesanti sono tenute insieme da ponti disolfuro.

Altrettanto insolito è il coinvolgimento diretto di legami a ponte di idrogeno nell'associazione di più subunità. Nella struttura quaternaria infatti, le subunità tendono ad affiancarsi in modo da contrapporre l'una all'altra le loro porzioni idrofobiche, rivolgendo verso l'esterno le regioni polari, idrofile.

L' **emoglobina** è un esempio classico di una proteina in struttura quaternaria. La proteina è un tetramero costituito dall'associazione di due **catene α** (141 amminoacidi) e due **catene β** (146 amminoacidi), ciascuna delle quali lega un gruppo **eme**. Il gruppo eme contiene un atomo di ferro in grado di legarsi debolmente ed in modo reversibile con l'ossigeno (O_2). L'emoglobina è

una proteina di trasporto in grado di trasferire i gas respiratori dai polmoni ai tessuti e viceversa.



emoglobina

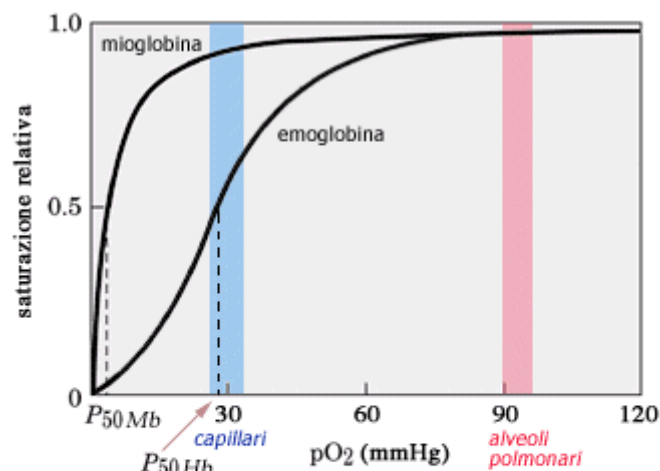
Le subunità sono tenute insieme da numerose interazioni idrofobiche e da diversi legami a idrogeno che rendono la struttura quaternaria assai stabile.

Contenendo quattro gruppi eme, l'emoglobina può legare fino a 4 molecole di O_2 . Ma il fatto notevole è che essa ha la capacità di modulare la propria affinità per l'ossigeno in funzione della concentrazione (pressione parziale) dell'ossigeno stesso.

Ciò è possibile grazie alla struttura oligomerica della proteina. Il legame di una molecola di O_2 ad una subunità provoca infatti una variazione conformazionale nelle subunità adiacenti, tale da far aumentare la loro affinità per l'ossigeno (la loro capacità di legare l'ossigeno). Maggiore è il numero di subunità che legano l'ossigeno, più cresce l'affinità degli altri siti di legame.

Questo fenomeno, comune a molti enzimi oligomerici, prende il nome di **cooperatività**.

L'emoglobina si caratterizza per il fatto di produrre una *curva di saturazione* in funzione della concentrazione del substrato con un caratteristico andamento *sigmoide* (a forma di esse). La mioglobina, proteina monomerica, non può ovviamente presentare il fenomeno della cooperatività e, legando l'ossigeno sempre *con la stessa affinità*, obbedirà ad una cinetica classica, con una tipica curva di saturazione *iperbolica*.



Confronto delle cinetiche di legame dell'ossigeno di mioglobina e emoglobina.
Per **saturazione relativa** si intende la frazione di siti totali che lega l'ossigeno; **P₅₀** è la pressione parziale di ossigeno (pO₂) necessaria per ottenere la semisaturazione, ovvero il 50% dei siti totali legati all'ossigeno.

La differente cinetica di legame dell'ossigeno rende le due proteine particolarmente adatte allo specifico ruolo che esse devono svolgere come trasportatori di O_2 .

L'emoglobina ha il compito di "fare il pieno" di ossigeno in un distretto dove la pO₂ (pressione parziale dell'ossigeno) è elevata (alveoli polmonari) e rilasciarlo facilmente in quei distretti in cui la pO₂ è relativamente bassa (tessuti periferici).

Se avesse le caratteristiche della mioglobina, fosse cioè in grado di legare l' O_2 con affinità elevata, ma costante, l'emoglobina potrebbe assolvere bene il primo compito, ma non il secondo. Come si può desumere dal grafico, un trasportatore come la *mioglobina* (P_{50} = ca. 3 mmHg), raggiungerebbe una saturazione pressoché completa (ca. 97%) negli alveoli

polmonari, ma resterebbe saturo per circa il 90% nei capillari e quindi non potrebbe cedere facilmente l'ossigeno ai tessuti.

L'aspetto veramente critico dell'intera questione risiede nel fatto che la differenza della pressione parziale dell'ossigeno nei due distretti non è poi così rilevante: varia infatti solo di un fattore tre fra alveoli polmonari e capillari.

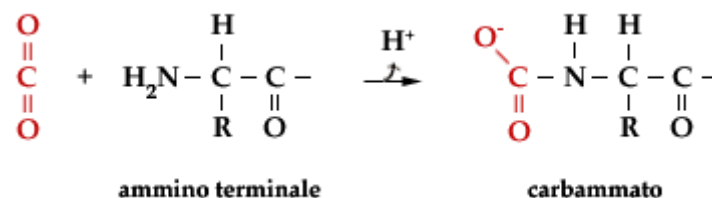
*Solo una proteina con una cinetica cooperativa potrebbe assolvere in maniera ottimale la funzione di **trasportatore di ossigeno** dai polmoni ai tessuti periferici.*

Qualche numero servirà a rendere più evidente la straordinaria efficienza dell'emoglobina nello svolgere il compito che le è assegnato.

L'emoglobina ha una P_{50} pari a ca. 30 mmHg, più o meno la pO_2 presente nei capillari, dove l'emoglobina ha pertanto una saturazione intorno al 50%. Se la sua affinità rimanesse costante, negli alveoli polmonari essa raggiungerebbe a malapena il 75% di saturazione; viceversa, grazie al fenomeno della cooperatività, è in grado di raggiungere una saturazione quasi completa.

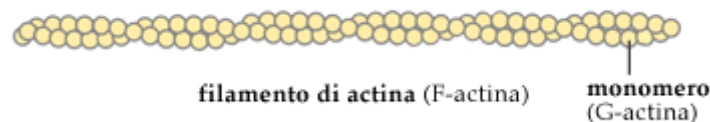
D'altro canto, la mioglobina, mantenendo costantemente elevata la propria affinità, può svolgere adeguatamente il ruolo di **riserva di ossigeno**, prontamente disponibile, nei tessuti periferici.

L'emoglobina ha anche l'importante funzione di trasportatore di CO_2 . La CO_2 viene trasportata come carbammato, legato all'- NH_2 del gruppo N-terminale di ciascuna catena

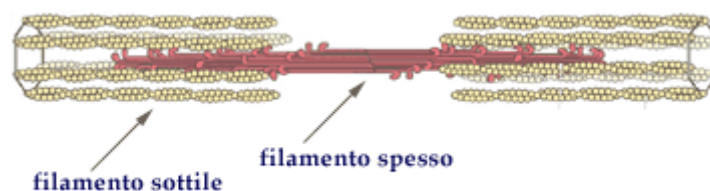


Esistono anche proteine in struttura quaternaria in cui le subunità si aggregano a formare, come le perle di una collana, strutture filamentose che svolgono in genere funzioni strutturali. Ne sono tipici esempi l'actina e la tubulina.

L'**actina** è costituita da numerosi monomeri *globulari* (G-actina), associati a formare una coppia di lunghi *filamenti*, avvolti a spirale fra loro (F-actina).

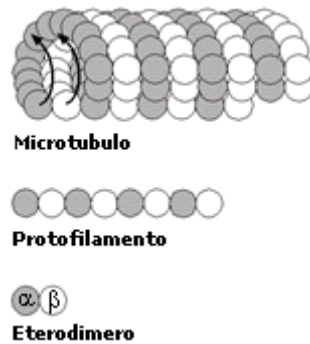


Nel **sarcomero**, l'unità contrattile delle fibre muscolari, diverse molecole di miosina si associano in fasci, con le teste sfalsate, a costituire i cosiddetti *filamenti spessi*; mentre le molecole di actina, associate con altre due proteine (tropomiosina e troponina) formano i *filamenti sottili*.



Lo scorrimento reciproco dei filamenti di actina e di miosina producono l'accorciamento del sarcomero e la conseguente contrazione muscolare

La **tubulina** è una proteina costituita da un eterodimero formato da una **subunità α** ed una **subunità β** . L'unità dimerica polimerizza a spirale formando dei **microtubuli**. Ciascun microtubulo risulta formato da 13 **protofilamenti** paralleli in cui le subunità alfa e beta si alternano. La cellula è in grado di montare e smontare i microtubuli molto rapidamente, aggiungendo o togliendo le unità dimeriche. I microtubuli vengono utilizzati dalla cellula per scopi diversi (ciglia, flagelli, fuso mitotico, citoscheletro) che verranno trattati in seguito.



2.5 Acidi nucleici: DNA ed RNA

Gli acidi nucleici sono l'**acido desossiribonucleico** (DNA) e l'**acido ribonucleico** (RNA). Prendono il loro nome dal fatto di essere presenti nel nucleo delle cellule.

La loro funzione è quella di contenere l'informazione genetica e renderla disponibile per guidare il metabolismo cellulare. Ogni organismo viene costruito e fatto funzionare a partire da un "progetto genetico" scritto nel suo DNA e reso operativo tramite il suo RNA.

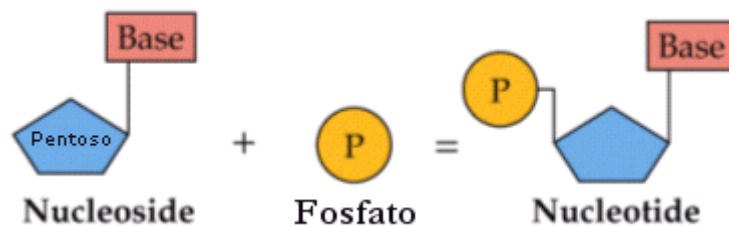
Gli acidi nucleici presentano una struttura molecolare per molti versi analoga a quella delle proteine. Infatti, come le proteine, anche gli acidi nucleici sono costituiti da "collane" formate dalla successione ordinata di molecole più piccole. Ma mentre i mattoni che formano le proteine sono i 20 tipi di amminoacidi, gli acidi nucleici si formano a partire da 4 tipi di **nucleotidi**.

L'analogia tra la struttura molecolare delle proteine e quella degli acidi nucleici non è casuale. Le informazioni genetiche sono infatti "codificate" negli acidi nucleici come "successione dei nucleotidi". La cellula trasforma poi la successione dei nucleotidi in una ben precisa successione di amminoacidi. In altre parole, la particolare sequenza dei nucleotidi negli acidi nucleici rappresenta le informazioni genetiche necessarie per definire la struttura primaria di tutte le proteine di un organismo.

Un nucleotide è formato dall'unione di un **pentoso** che si lega ad una molecola di **acido fosforico** H_3PO_4 (gruppo **fosfato**) e ad una **base azotata** con legami di condensazione. In particolare si definisce **nucleoside** l'unione di un pentoso con un gruppo fosfato, mentre l'unione di un nucleoside con una base azotata genera un nucleotide.

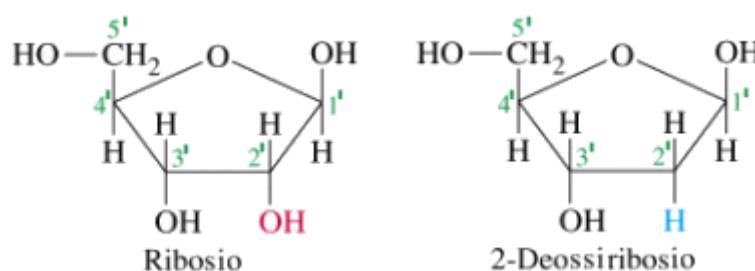
Base + Pentoso = Nucleoside

Nucleoside + Fosfato = Nucleotide



Il DNA è costituito da 4 tipi di nucleotidi diversi da quelli che formano l'RNA

Nei 4 nucleotidi del DNA il pentoso è il **desossiribosio** (o deossiribosio), una molecola di ribosio che ha perso un atomo di ossigeno, mentre nell'RNA il pentoso è il **Ribosio**.



I 4 nucleotidi si differenziano tra di loro per le basi azotate (le basi azotate sono in questo analoghe ai gruppi R nelle proteine)

Le basi azotate del DNA sono:

Adenina (A) **Timina (T)** **Citosina (C)** **Guanina (G)**

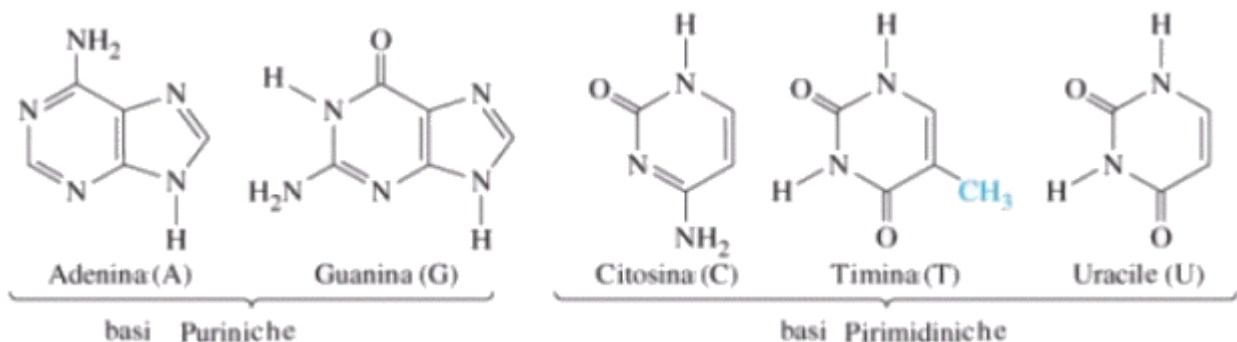
Le basi azotate dell'RNA sono:

Adenina (A) **Uracile (U)** **Citosina (C)** **Guanina (G)**

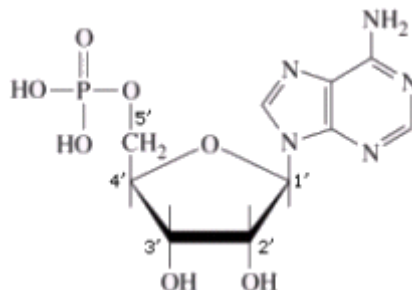
In altre parole i nucleotidi dell'RNA si differenziano da quelli del DNA solo per lo zucchero (ribosio al posto di deossiribosio) e per l'Uracile che sostituisce la Timina.

Adenina e Guanina sono **basi puriniche**

Citosina Timina ed Uracile sono **basi pirimidiniche**



Lo zucchero lega la base azotata in posizione 1' (uno-primo) ed il gruppo fosfato in posizione 5' (cinque-primo).



I 4 nucleotidi del DNA in forma libera (non legati nella catena del DNA) vengono indicati con le seguenti sigle:

dAMP (deossiAdenosin Monofosfato)

dGMP (deossiGuanosin Monofosfato)

dCMP (deossiCitidin Monofosfato)

dTMP (deossiTimidin Monofosfato)

I 4 nucleotidi dell'RNA in forma libera vengono indicati con le seguenti sigle:

AMP (Adenosin Monofosfato)

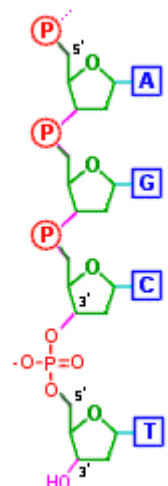
GMP (Guanosin Monofosfato)

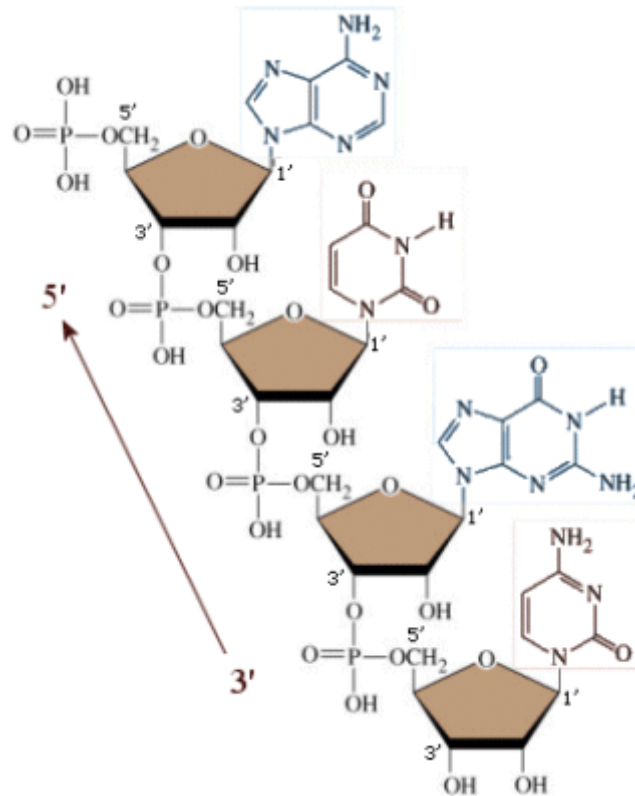
CMP (Citidin Monofosfato)

UMP (Uridin Monofosfato)

I nucleotidi si legano tra loro in successione tramite legami fosfo-diesterici: il gruppo fosfato di un nucleotide si salda allo zucchero del nucleotide successivo in posizione 3' (tre-primo).

In questo modo si forma una catena in cui si succedono zucchero e fosfato, mentre le basi azotate rimangono sporgenti. La catena presenta quindi una precisa direzionalità, presentando ad un estremo il carbonio 5' ed all'altro estremo il carbonio 3' libero (non legato al gruppo fosfato)



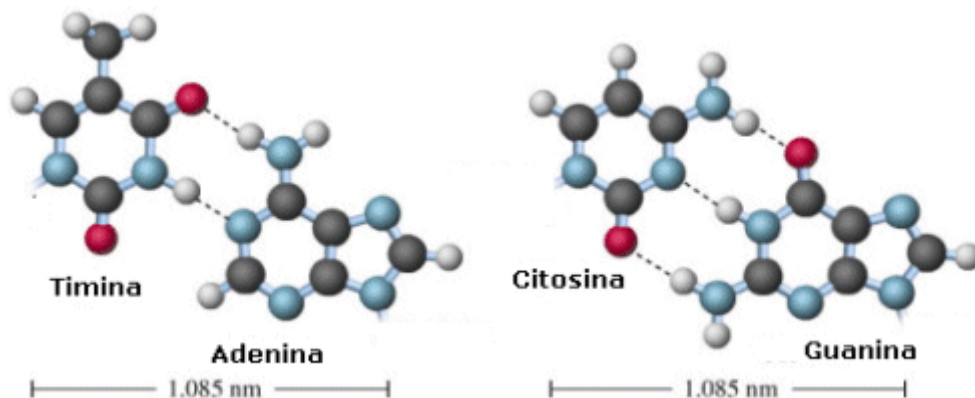


2.5.1 La struttura secondaria del DNA: la doppia elica

In natura il DNA si presenta con una **struttura secondaria a doppia elica** frutto dell'associazione di due singoli filamenti.

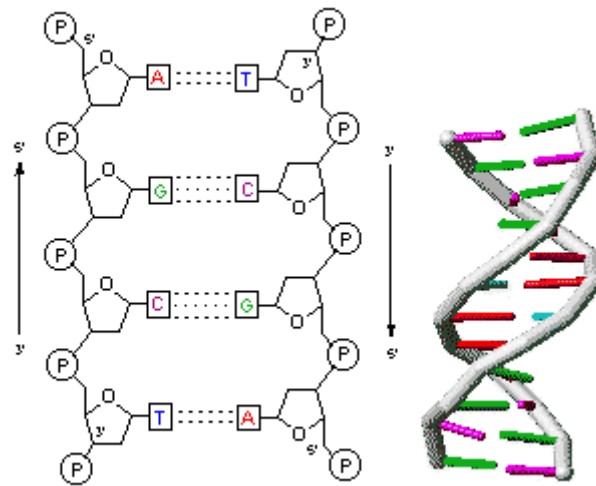
L'accoppiamento delle due catene si realizza attraverso la formazione di ponti a idrogeno tra le rispettive basi azotate, che vengono quindi a situarsi nella porzione centrale della struttura.

L'abbinamento fra i nucleotidi può realizzarsi soltanto tra basi cosiddette **complementari**, cioè fra adenina e timina, mediante due ponti a idrogeno (A=T), o tra citosina e guanina, mediante tre ponti a idrogeno (C=G).



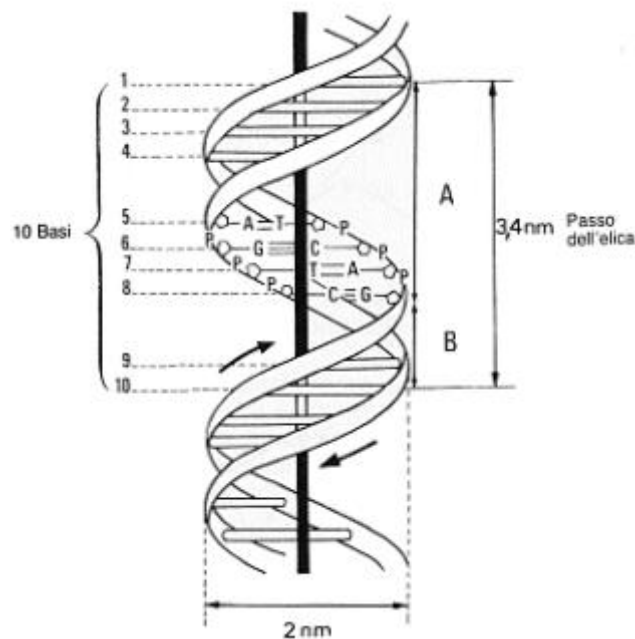
Le due catene, per fronteggiarsi, devono opporre una direzionalità inversa, essendo l'una diretta da 3' a 5', e l'altra, necessariamente, da 5' a 3', da cui è nato il termine di **eliche antiparallele**.

Le basi presentano una struttura planare e sono disposte in maniera parallela tra loro, come i gradini di una **scala a chiocciola**.

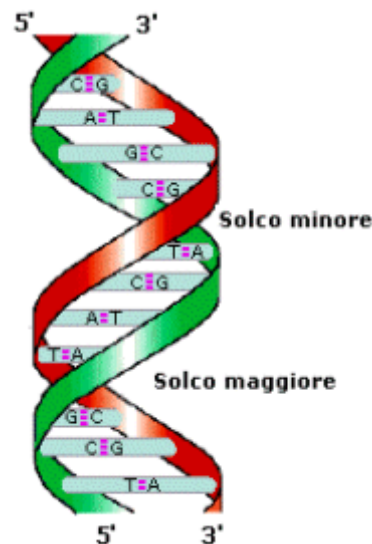


La complementarietà dei due filamenti ha una conseguenza fondamentale. Infatti, qualora sia stabilita l'esatta successione di basi di un filamento, si può ricavare, seguendo semplicemente le leggi della complementarietà, la serie di nucleotidi del filamento corrispondente.

In questa conformazione ciascuna coppia di basi dista dalle contigue 0,34 nm. Un giro completo dell'elica, o passo dell'elica, misura 3,4 nm, per cui sono presenti **10 coppie di basi** per un giro completo. Il diametro dell'elica è di 2nm. L'avvitamento è destrorso, ossia, immaginando di guardare lungo l'asse, i due filamenti si avvolgono in senso orario.



La struttura del DNA in natura ed in condizioni normali viene detta di *tipo B* con le basi perpendicolari all'asse dell'elica. La **struttura B** è la più frequente ed è quella a cui ci si riferisce in generale. Rappresenta il DNA in una soluzione acquosa e forma al suo esterno due solchi di diverse dimensioni chiamati **solco maggiore** e **solco minore**.

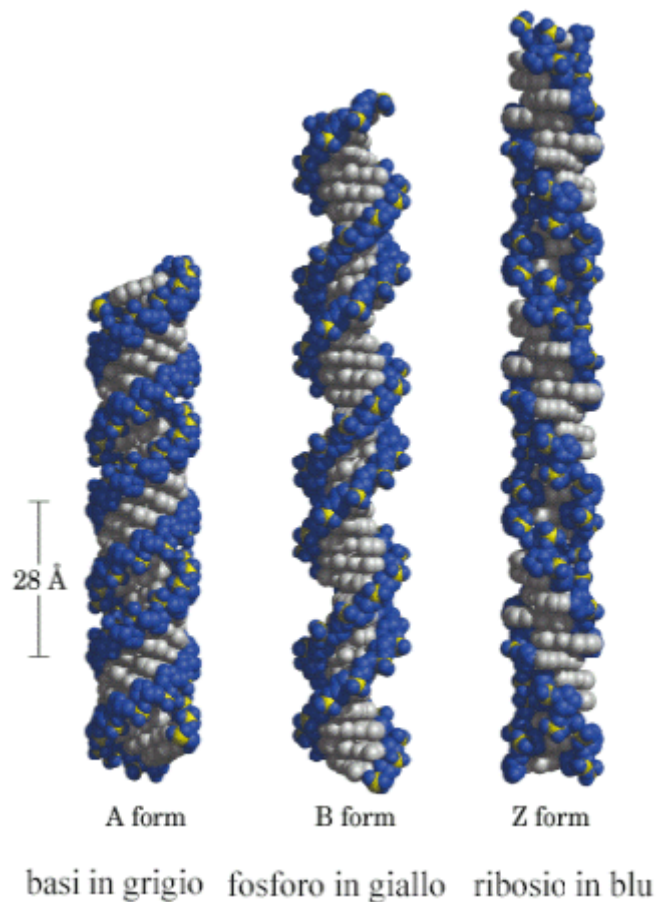


In condizioni particolari esistono altre due strutture dette A e Z.

La **struttura A** non esiste in vivo e corrisponde alla molecola disidratata ed è più compatta. Contiene 11 basi per giro, presenta un diametro di 2,4 nm ed un passo di 2,6 nm.

La **struttura Z** è un'elica sinistrorsa con lo scheletro che presenta un andamento ondulato (Z = Zig-zag).

Contiene 12 basi per giro, presenta un diametro di 1,8 nm ed un passo di 3,7 nm. Questa struttura si può formare in brevi tratti costituiti da una alternanza delle basi G e C ripetute più volte. Si pensa che possa avere delle funzioni strutturali e di informazione in alcuni processi cellulari e inoltre una sua eccessiva presenza sembra essere correlata alla comparsa di malattie autoimmuni.



2.5.2 Funzioni biologiche del DNA

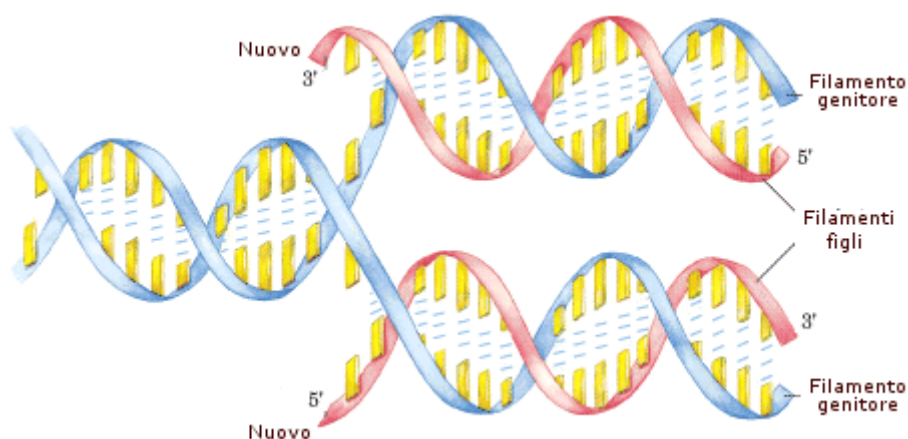
Come abbiamo già detto il DNA contiene il "progetto costruttivo" ed i "programmi di gestione e manutenzione" di un organismo, codificati nella sua struttura primaria (sequenza basi). Le sue funzioni, strettamente correlate alla sua natura di deposito di informazioni, sono:

- 1) Rendere disponibili le informazioni genetiche per la costruzione ed il corretto funzionamento dell'organismo. Tale funzione viene mediata da molecole di RNA che copiano le informazioni genetiche (**trascrizione**) e le trasformano (**traduzione**) in proteine (**sintesi proteica**). Le diverse sequenze di nucleotidi, caratteristiche del DNA di un organismo, definiscono infatti quali amminoacidi debbano succedersi nella costituzione delle sue proteine. Tra le proteine sintetizzate vi sono naturalmente anche gli enzimi, prodotti per controllare le reazioni di cui la cellula necessita. In questo modo il DNA controlla, attraverso la sintesi degli enzimi, tutto il metabolismo cellulare
- 2) Generare copie delle informazioni genetiche (**duplicazione o replicazione del DNA**) in modo da rendere disponibile l'intero progetto genetico per le nuove cellule che si formano. Ogni essere vivente pluricellulare nasce infatti a partire da una sola cellula (**zigote**), la quale ha il compito di moltiplicarsi fino a formare i miliardi di cellule di cui è composto l'organismo adulto. Al momento di ogni divisione cellulare (**mitosi**) devono dunque essere già predisposte due copie del materiale genetico (DNA) in modo che ogni nuova cellula possieda per intero tutte le informazioni per funzionare correttamente.

Tutte le funzioni svolte dal DNA sono rese possibili grazie alla complementarietà delle basi azotate.

Duplicazione del DNA

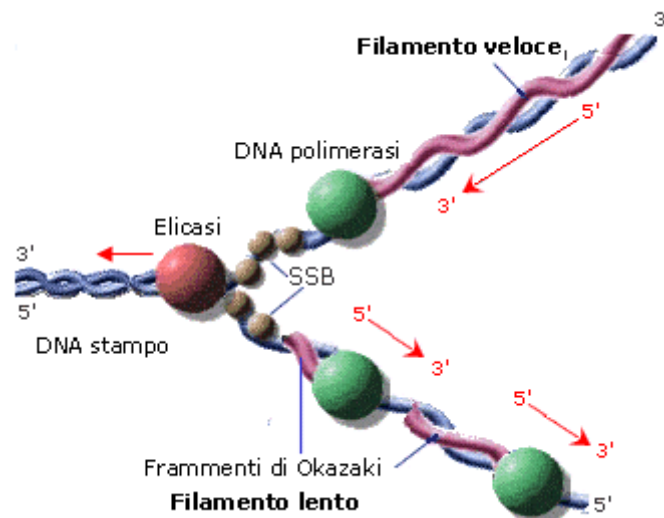
Nel processo di duplicazione (o replicazione) del DNA, il doppio filamento viene attaccato e tagliato in un punto dall'enzima **topoisomerasi**. La doppia elica viene successivamente aperta come una cerniera-lampo dall'enzima **elicasi** che, rompendo i ponti ad idrogeno che tengono unite le basi azotate complementari, separa i due filamenti e forma una struttura ad Y detta **forcella di replicazione**. La forcella di replicazione viene stabilizzata dalle **proteine SSB**. Un altro enzima (**DNA-polimerasi**) provvede poi ad agganciare su ognuno dei due filamenti esposti (**filamenti-genitori o parentali**) dei nucleotidi complementari. In questo modo su ciascun filamento viene ricostruito il filamento mancante (**filamento-figlio**) e si generano due copie della doppia elica originaria. Poiché in ciascuna di queste due copie sopravvive metà della molecola originaria, tale processo è anche noto come **sintesi semiconservativa**.



Per le caratteristiche intrinseche al legame stesso, la costruzione dei nuovi filamenti avviene solo in direzione 5'→3'. Ed avendo il DNA due filamenti antiparalleli, la sintesi dei due nuovi filamenti avviene necessariamente in direzioni opposte.

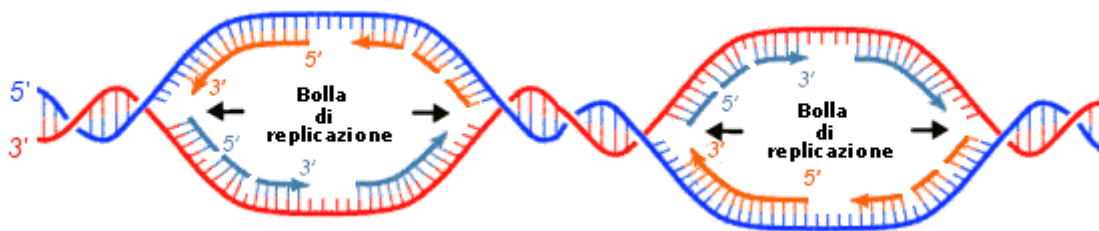
Un filamento, detto **filamento veloce** (*leading strand*) viene sintetizzato in modo continuo, poiché la DNA-Polimerasi avanza nella stessa direzione dell'elicasi.

L'altro filamento, detto **filamento lento** (*lagging strand*) viene sintetizzato in modo discontinuo, con la formazione di segmenti di DNA detti **frammenti di Okazaki**, che vengono successivamente saldati dall'enzima **DNA-ligasi**.

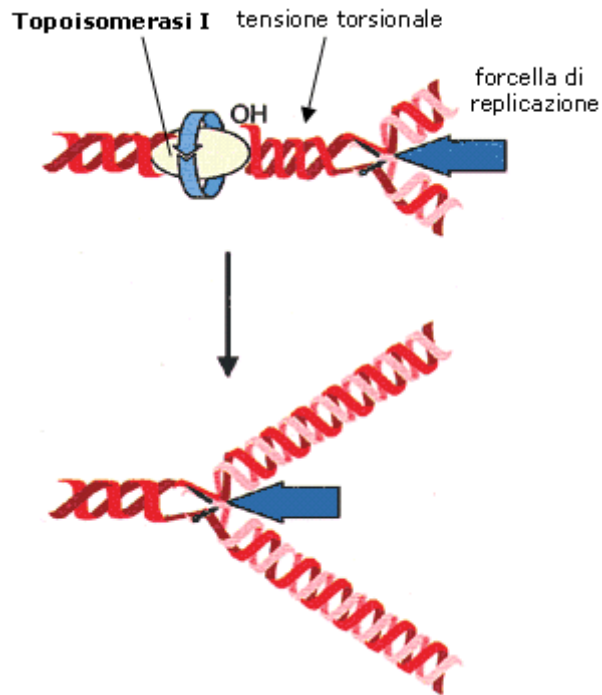


La DNA-polimerasi necessita di un innesco, cioè di una breve sequenza di RNA (**RNA primer**) da cui partire per sintetizzare il nuovo filamento, dal momento che è in grado solo di aggiungere nucleotidi a una catena preesistente, che fornisca una estremità 3'-ossidrilica libera. Inoltre la DNA-polimerasi possiede un secondo sito attivo in grado di controllare che l'attività di appaiamento delle basi sia avvenuta correttamente e di correggere eventuali errori. Nel caso vengano individuati errori nel processo di duplicazione la DNA-polimerasi torna indietro a correggerli. Questa funzione di correzione è definita **attività 3'-5' esonucleasica** (proofreading activity = correzione di bozze).

La duplicazione del DNA avviene contemporaneamente in più punti della molecola, con le forcelle di replicazione che si allontanano in direzioni opposte formando **bolle di replicazione**, destinate ad estendersi ed a fondersi.



Mentre le bolle di replicazione crescono i filamenti di DNA non ancora aperti tendono a manifestare una tensione torsionale aumentando il numero di spire per unità di lunghezza (si pensi a cosa accade ad una treccia se tiriamo le estremità dei fili divaricandoli). Le **topoisomerasi di classe I** risolvono il problema della tensione causato dall'avanzamento dell'elicasi tagliando periodicamente uno dei due filamenti e permettendo all'elica di girare, per svolgere gli avvolgimenti in eccesso. Quando il DNA si è rilassato, la topoisomerasi riconnette il filamento rotto, ripristinando il DNA a doppia elica.



I frammenti di Okazaki vengono successivamente saldati dalla **DNA ligasi**, mentre i primers di RNA vengono rimossi e sostituiti da analoghi filamenti di DNA da un enzima della famiglia delle DNA-polimerasi.

2.5.3 La struttura secondaria dell'RNA

Come abbiamo già visto l'RNA è costituito da una catena di nucleotidi in cui lo zucchero è il **ribosio** e la Timina è sostituita dall'**Uracile**. La complementarietà delle basi è in questo caso Adenina-Uracile e Citosina-Guanina.

Mentre il DNA è una molecola di grandi dimensioni e notevolmente stabile, gli RNA sono più piccoli, hanno vita limitata e inoltre sono caratterizzati da una struttura a singolo filamento.

Le molecole di RNA possono ripiegarsi su se stesse in modo tale da permettere la formazione di legami ad idrogeno tra basi complementari appartenenti a tratti diversi e distanti della medesima catena con formazione di zone a struttura secondaria elicoidale.

Piccole molecole di RNA sono quindi in grado di acquisire una struttura tridimensionale regolare, spesso responsabile della loro funzione specifica, mentre RNA più grandi presentano zone a struttura tridimensionale definita, congiunte fra loro da parti non strutturate.

Le molecole di RNA vengono sintetizzate utilizzando un filamento di DNA come stampo sul quale vengono appaiati i singoli nucleotidi complementari dell'RNA (**trascrizione**).

Spesso la forma funzionale di un RNA è più corta rispetto al trascritto primario. Il passaggio dalla forma primaria inattiva a quella finale funzionale avviene ad opera di enzimi specifici che rimuovono alcune zone della molecola (**introni**) e saldano quelle rimanenti (**esoni**) attraverso un processo di taglia-incolla detto **splicing**.

2.5.4 Funzioni biologiche dell'RNA

L'RNA permette al DNA di trasformare le informazioni in esso contenute in proteine. Esistono 3 tipi di RNA, tutti coinvolti nella **sintesi proteica**.

- **RNA ribosomiale (rRNA)** che va a formare i **ribosomi**, organuli cellulari che "traducono" le sequenze nucleotidiche in sequenze proteiche
- **RNA messaggero (mRNA)** che copia le informazioni contenute nel DNA (**trascrizione**) e le trasferisce ai ribosomi per la traduzione

- **RNA di trasporto o transfer (tRNA)** che porta gli amminoacidi ai ribosomi affinché li saldino in catene proteiche (sintesi proteica)

2.5.5 Sintesi proteica

Come abbiamo già detto il DNA contiene le informazioni necessarie per posizionare nella giusta successione gli amminoacidi di una proteina. Il tratto di DNA che "codifica" per una particolare proteina si definisce "**gene**". Le informazioni "genetiche" sono codificate nella struttura primaria del DNA, sono cioè scritte nella successione delle sue basi azotate.

Nel descrivere la sintesi proteica si utilizza una metafora linguistica, in cui esistono due linguaggi: quello del DNA con un alfabeto di 4 lettere (le basi azotate) e quello delle proteine con un alfabeto di 20 lettere (gli amminoacidi).

Le informazioni devono pertanto essere "tradotte" da un linguaggio ad un altro. Ovviamente per effettuare la traduzione e "decifrare" un "messaggio codificato" è necessario possedere il "codice" che fornisce la corrispondenza tra i simboli dei due linguaggi.

Il "**codice genetico**" definisce dunque il modo in cui la successione delle basi azotate del DNA deve essere tradotta nella corretta successione di amminoacidi di una proteina. Ovviamente non vi può essere una corrispondenza biunivoca tra basi azotate ed amminoacidi (4 contro 20). Si è scoperto che il "vocabolario" del DNA è formato da 64 "parole", formate dalla combinazione delle quattro "lettere" A T C G (basi azotate) prese a gruppi di tre ($4^3 = 64$).

Ciascun amminoacido viene dunque "codificato" da una particolare **tripletta di basi o codone**. I codoni sono le triplette già trascritte nella molecola dell'RNA messaggero e quindi con l'Uracile al posto della Timina.

Esistono più triplette che codificano per il medesimo amminoacido (ridondanza del codice genetico), ma ciascuna tripletta non può, ovviamente, codificare per amminoacidi diversi.

Esistono anche triplette che non codificano per alcun amminoacido, dette triplette "**not-sense**", che la cellula utilizza come "segni di interpunzione" durante la traduzione dell'informazione per segnalare la fine (stop) della sintesi della proteina.

UUU UUC	phenyl alanine	UCU UCC UCA UCG	serine	UAU UAC	tyrosine	UGU UGC	cysteine
UUA UUG	leucine			UAA UAG	stop	UGA	stop
						UGG	tryptophan
CUU CUC CUA CUG	leucine	CCU CCC CCA CCG	proline	CAU CAC	histidine	CGU CGC CGA CGG	arginine
				CAA CAG	glutamine		
AUU AUC AUA	isoleucine	ACU ACC ACA ACG	threonine	AAU AAC	asparagine	AGU AGC	serine
AUG	methionine			AAA AAG	lysine	AGA AGG	arginine
GUU GUC GUA GUG	valine	GCU GCC GCA GCG	alanine	GAU GAC	aspartic acid	GGU GGC GGA GGG	glycine
				GAA GAG	glutamic acid		

Il processo di sintesi proteica si articola in due fasi: trascrizione e traduzione dell'informazione genetica. Nella fase di trascrizione l'informazione viene trasferita dal DNA all'RNA, mentre nella fase di traduzione l'informazione passa dall'RNA alle proteine

2.5.6 Trascrizione – sintesi dell'RNA

In questa fase l'informazione genetica viene copiata (trascritta) dal DNA su di una molecola di RNA. Il processo di trascrizione avviene grazie all'enzima **RNA-polimerasi**. Nelle cellule eucarioti ci sono tre diverse molecole di RNA-polimerasi, che occupano diversi siti. Ciascuno di questi enzimi è responsabile della trascrizione di una differente classe di geni.

L'*RNA-polimerasi I*, che risiede nel nucleolo, è responsabile della trascrizione dei geni per la produzione di tutto l'RNA ribosomiale (o rRNA). Questo è l'enzima con la più elevata attività di sintesi.

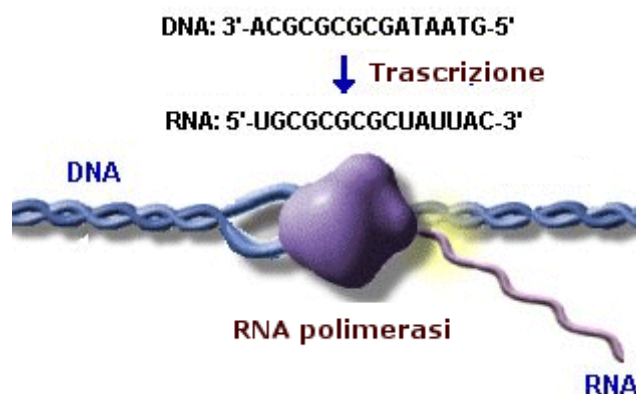
L'*RNA-polimerasi II*, localizzata nel nucleoplasma (la parte di nucleo che esclude il nucleolo), responsabile della sintesi del precursore dell'RNA messaggero (mRNA).

L'*RNA-polimerasi III*, l'enzima con l'attività minore, anch'essa presente nel nucleoplasma, che sintetizza l'RNA di trasporto (tRNA).

Nella fase di inizio l'RNA-polimerasi si lega alla doppia catena del DNA, aprendola in corrispondenza di una particolare sequenza, chiamata **promotore**. Il promotore è una speciale sequenza di nucleotidi che non verrà trascritta, situata sul DNA all'inizio del gene.

Successivamente l'RNA-polimerasi scorre lungo il DNA rompendo i ponti Idrogeno tra le basi azotate complementari ed aprendo la doppia elica come una cerniera. In questo modo una delle due catene viene esposta alla copiatura e fa da stampo per la sintesi di una molecola di RNA messaggero ad essa complementare. Mentre l'RNA-polimerasi scorre sul filamento-stampo del DNA vengono agganciati ad esso dei ribonucleotidi complementari. Quando, durante la trascrizione, nel DNA si incontreranno particolari sequenze di basi alla fine del gene (**terminatore**) si avrà il termine della trascrizione. Il filamento di RNA messaggero si stacca ed il DNA si richiude e si riavvolge.

Poiché i due filamenti si legano tramite appaiamento delle basi azotate complementari, questi sono tra loro *antiparalleli*. La direzione di lettura del DNA è 3'→5' mentre quella di trascrizione è 5'→3'.



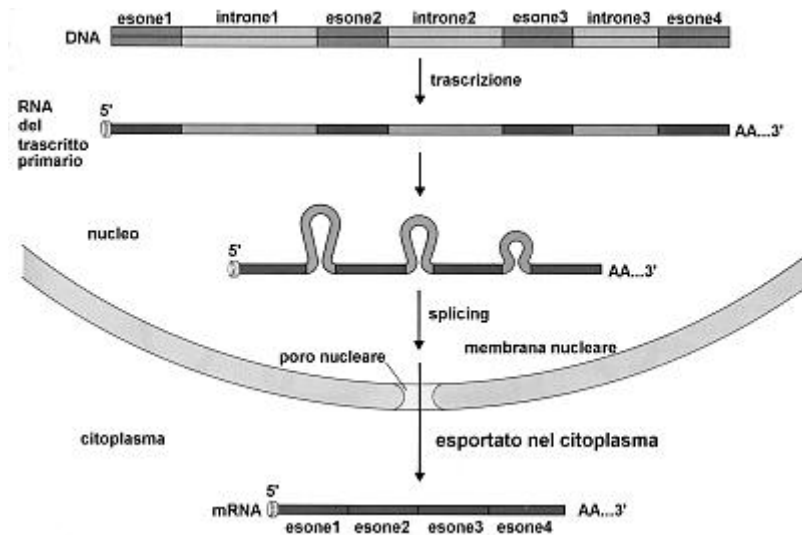
Il prodotto della trascrizione è denominato **trascritto primario** e consiste probabilmente in un filamento di RNA che si estende dal promotore al terminatore. Non si ha dimostrazione di ciò perché esso è molto instabile e quindi difficile da isolare.

La fase cruciale della produzione delle diverse forme di RNA è la **maturazione** a partire dai precursori.

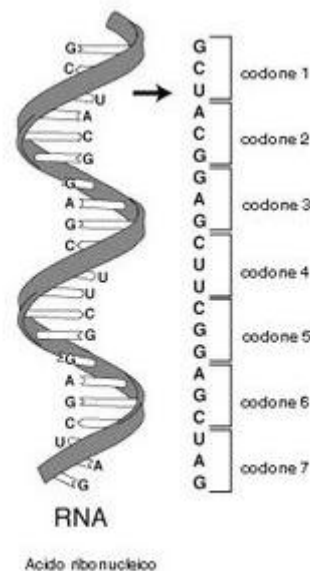
I complessi trascritti primari degli rRNA e tRNA di procarioti ed eucarioti vengono modificati in forme mature più semplici. Gli mRNA dei procarioti non subiscono quasi mai modificazioni, mentre l'assemblaggio dell'mRNA degli eucarioti è piuttosto complesso.

Negli eucarioti la trascrizione genera dei precursori nucleari degli mRNA (trascritti primari) caratterizzati dalla presenza di modificazioni chimiche all'estremità 5' e dalla presenza di zone non codificanti (**introni**). Tali precursori vengono in seguito convertiti negli mRNA maturi attraverso un processo (**splicing**) che prevede la rimozione degli introni e il ricongiungimento delle parti codificanti (**esoni**). Lo *splicing* avviene grazie a un apparato enzimatico complesso in grado di riconoscere sequenze specifiche presenti nelle zone di giunzione esone-introne, di rimuovere gli introni e di ricongiungere correttamente tra loro i vari esoni.

Una volta maturati, gli mRNA, come le subunità ribosomiche e i tRNA, passano nel citoplasma per svolgere la loro funzione nella sintesi proteica.



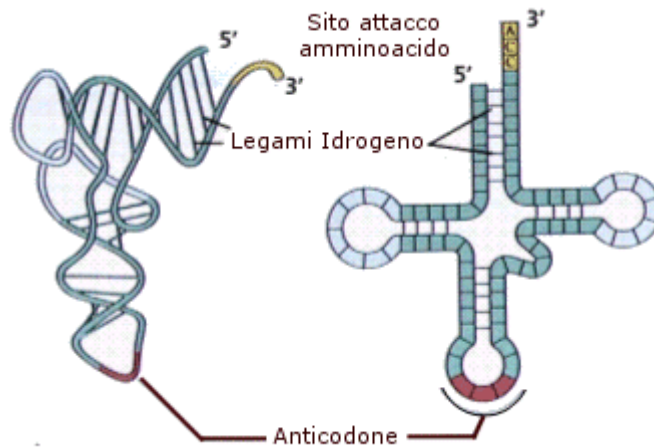
L'**RNA messaggero** (*mRNA*) rappresenta la classe di RNA più eterogenea; infatti è costituita da filamenti contenenti tanti **codoni** quanti sono gli amminoacidi delle proteine da loro codificate.



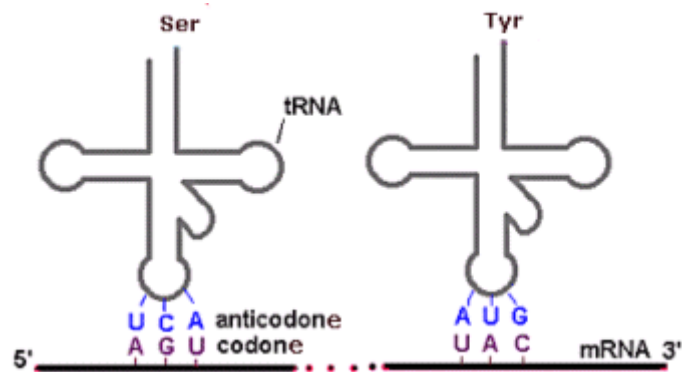
RNA messaggeri codificanti per piccole proteine sono costituiti da alcune centinaia di nucleotidi, quelli codificanti per proteine grandi ne comprendono varie migliaia. Ogni mRNA è caratterizzato dal codone d'inizio (spesso AUG, specifico per l'amminoacido metionina). I tre codoni UAA, UGA e UAG rappresentano invece il segnale di terminazione della sintesi della catena polipeptidica. La precisione nell'andamento lineare dei ribonucleotidi in gruppi di tre, non solo determina il corretto allineamento degli amminoacidi in una proteina, ma anche un esatto punto di inizio e di conclusione della sua sintesi.

L'**RNA di trasporto** (*tRNA*) trasferisce ai ribosomi i vari amminoacidi che, uniti tra loro con legame peptidico, formano le proteine. Molti trascritti primari che originano dai geni per i tRNA sono discretamente più lunghi rispetto alle piccole molecole mature che si riversano nel citoplasma e che contengono molte basi modificate. Come tutte le macromolecole trasportate dal nucleo al citoplasma, anche i tRNA maturi vengono trasportati attraverso i pori nucleari, probabilmente associati a proteine specifiche che ne facilitano il passaggio. Una volta giunti nel citoplasma, i tRNA maturi si presentano come molecole piccole, costituite da 75-80 nucleotidi che si appaiano tra loro in zone specifiche con ponti idrogeno tra basi complementari, interrotte da tratti a singolo filamento. Tale situazione determina una particolare conformazione a "trifoglio", caratteristica per tutti i tRNA. Nella cellula, tuttavia, questa molecola ha una complessa organizzazione a forma di L rovesciata e contorta a spirale, poiché le due anse laterali del trifoglio si avvicinano tra loro formando l'angolo fra i bracci della L.

L'estremità 3' del filamento polinucleotidico di tutti i tRNA sopravanza quella 5' di tre nucleotidi uguali (C-C-A): tale sequenza rappresenta il sito accettore dell'amminoacido che, una volta attivato dall'enzima amminoacilsintetasi, si posiziona sul tRNA. Si distinguono circa venti tRNA, ciascuno specifico per un determinato amminoacido.



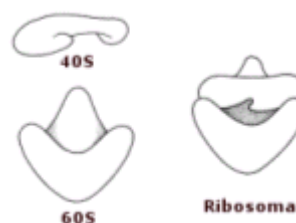
La parte più caratteristica della molecola del tRNA è l'ansa terminale, detta **anticodone** poiché porta tre basi complementari ai codoni degli mRNA.



Gli **RNA ribosomiali** (rRNA) costituiscono una famiglia di molecole che, assemblate insieme a più di 50 diverse proteine, formano i **ribosomi**. I ribosomi sono gli organuli citoplasmatici che utilizzano le informazioni genetiche dell'RNA messaggero e gli amminoacidi portati dagli RNA di trasporto per assemblare le proteine. Sono costituiti da due subunità classificate in termini di Svedberg (S), una misura del coefficiente di sedimentazione di particelle in sospensione sottoposte a centrifugazione (gli organuli cellulari vengono separati tramite centrifugazione in base alla loro diversa densità). La lunghezza delle molecole di rRNA, la qualità delle proteine costituenti ciascuna subunità e di conseguenza la grandezza di queste ultime varia tra procarioti ed eucarioti.

In base ai loro coefficienti di sedimentazione, i ribosomi sono stati suddivisi in due classi:

- I ribosomi **70 S** sono caratteristici dei procarioti e sono formati da una subunità 30 S e da una 50 S.
- I ribosomi **80 S** sono caratteristici degli eucarioti e sono formati da una subunità 40 S e da una 60 S



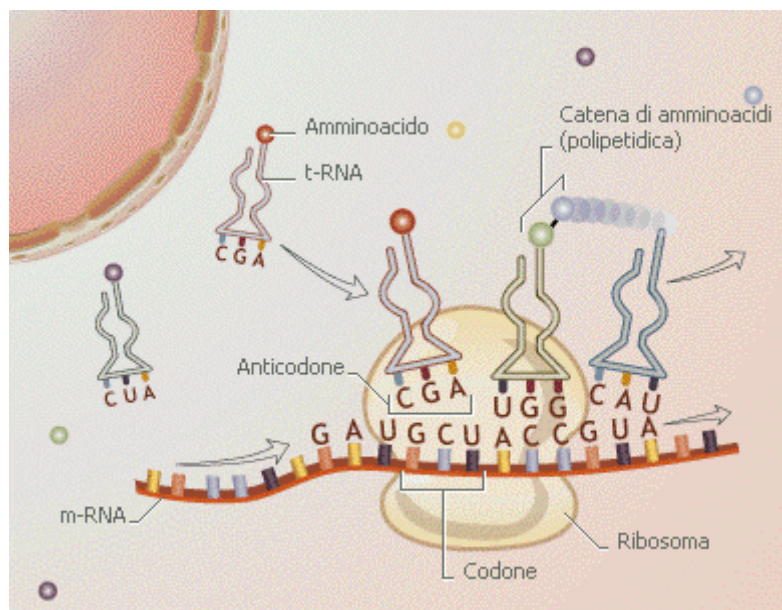
Negli eucarioti i geni che codificano per gli rRNA sono localizzati nel **nucleolo**, che si evidenzia come un corpicciolo sferico situato nel nucleo. Tale conformazione è dovuta all'intensa attività

trascrizionale che si attua al livello di questi geni e dal quasi contemporaneo assemblaggio degli RNA alle proteine ribosomiali.

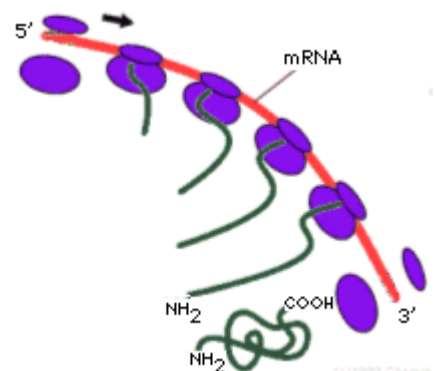
2.5.7 Traduzione

Nella fase di traduzione, l'informazione genetica, contenuta nell'RNA messaggero come sequenza di codoni (triplette di basi), viene letta dai ribosomi in direzione 5' → 3' e trasformata nella corrispondente sequenza di amminoacidi (proteina) grazie al codice genetico.

- Il filamento di mRNA contenente l'informazione si inserisce tra le due subunità del ribosoma, il quale si posiziona sui primi due codoni.
- Due molecole di tRNA, aventi gli anticodoni complementari si agganciano ai codoni, posizionando in tal modo gli amminoacidi trasportati uno accanto all'altro. Gli amminoacidi vengono saldati con legame peptidico ed il primo tRNA esce dal ribosoma lasciando il suo amminoacido sulla catena proteica in via di formazione
- Il ribosoma scivola sul filamento di mRNA, scalando di un codone e posizionandosi sul secondo e terzo codone. Una terza molecola di tRNA si aggancia al terzo codone permettendo l'aggancio del suo amminoacido ai due precedenti. Il secondo tRNA si sgancia lasciando il suo amminoacido sulla catena proteica in via di formazione
- La traduzione procede con il medesimo meccanismo, con il ribosoma che avanza di un codone per volta ed un tRNA che entra carico del suo amminoacido ed uno che esce scarico del suo amminoacido.
- Il processo termina quando il ribosoma trova un codone not-sense. Il filamento proteico si stacca e viene liberato nel citoplasma dove assume la sua conformazione nativa.



Un filamento di mRNA può essere letto e tradotto più volte in modo da ottenere più copie della medesima proteina. La traduzione può essere fatta contemporaneamente da più ribosomi che si infilano sul medesimo filamento come le perle di una collana. La struttura che ne deriva prende il nome di **poliribosoma** (o **polisoma**). Ciascun ribosoma appartenente ad un polisoma si trova ovviamente in una fase diversa della sintesi della medesima proteina

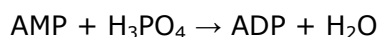


2.5.8 Derivati dei nucleotidi: ATP e NAD

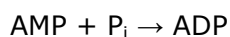
ATP e NAD sono due nucleotidi modificati che la cellula utilizza per il suo metabolismo energetico.

L'**ATP** (Adenosin Trifosfato) viene utilizzato dalle cellule come contenitore e trasportatore di energia. L'ATP deriva dall'AMP (Adenosin Monofosfato = Adenina-Ribosio-Fosfato) per aggiunta di due molecole di acido fosforico.

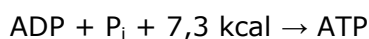
Nel primo passaggio si forma ADP (Adenosin Difosfato = Adenina-Ribosio-Fosfato-Fosfato) secondo la seguente reazione di condensazione che avviene tra il gruppo fosfato dell'AMP e la molecola di acido fosforico



Spesso nei composti organici il gruppo fosfato viene indicato, in modo abbreviato, con il simbolo **P_i** (Fosforo inorganico). La reazione di formazione dell'ADP può quindi essere scritta in forma sintetica



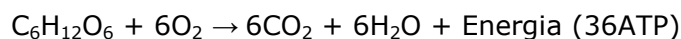
L'ATP si forma dalla reazione di condensazione di una molecola di ADP con un'altra molecola di acido fosforico. La reazione è fortemente endoergonica e richiede circa 7,3 kcal/mol (30,5 kJ/mol)



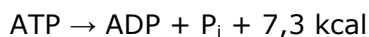
L'ATP risulta in tal modo una molecola altamente energetica. L'energia è fissata nel legame tra il secondo ed il terzo gruppo fosfato, legame che viene rappresentato con un tratto circonflesso



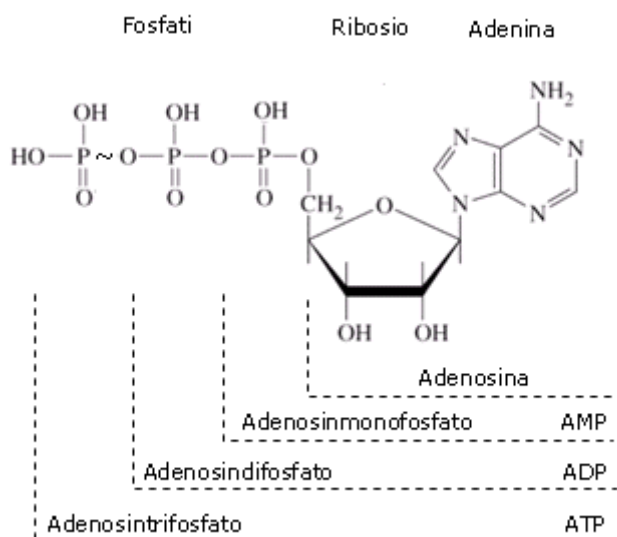
La cellula utilizza l'energia estratta dai suoi combustibili (carboidrati e lipidi) per sintetizzare ATP. In questo modo l'energia non viene dissipata sotto forma di calore, ma viene fissata come energia di legame in molecole, come l'ATP, rapidamente utilizzabili per fornire energia. Ad esempio, la combustione di una molecola di glucosio permette alla cellula di caricare 36 ATP



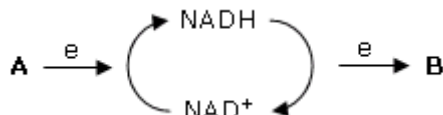
Quando la cellula ha bisogno di energia può ottenerla in modo rapido semplicemente idrolizzando ATP



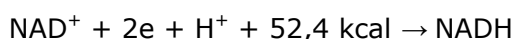
Durante il metabolismo cellulare questa molecola oscilla dunque continuamente tra la forma carica (ATP) e la forma scarica (ADP)



Il NAD (Nicotinammide AdeninDinucleotide) è una **ossidoreduttasi**, un coenzima che catalizza reazioni di ossidoriduzione. Il NAD è quindi in grado di trasferire elettroni (ed Idrogeno) da una molecola che si ossida ad una molecola che si riduce. Ovviamente quando il NAD acquista elettroni da una molecola **A** che si ossida il NAD passa in una forma ridotta (**NADH** o **NAD ridotto**), mentre quando cede elettroni ad una molecola **B** che si riduce passa in una forma ossidata (**NAD⁺** o **NAD ossidato**)



La reazione di riduzione del NAD richiede 2 elettroni, uno ione H⁺ e 52,4 kcal/mol (220 kJ/mol)



In modo analogo a quanto accade per l'ATP, anche il NAD oscilla quindi tra una forma scarica (NAD⁺) ed una forma carica (NADH).

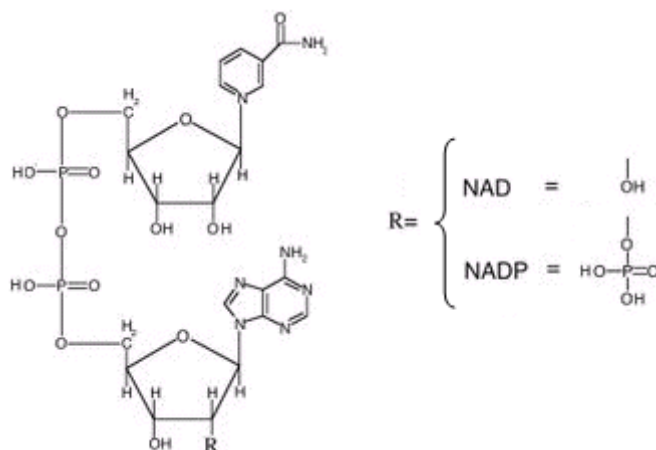
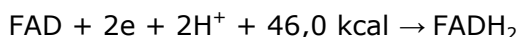
Altre importanti ossidoreduttasi analoghe al **NAD** sono il FAD (Flavin Adenin Dinucleotide) e il **NADP** (NAD fosfato).

Analogamente al NAD esistono entrambi nella forma ossidata e ridotta

FAD ossidato (**FAD**) e FAD ridotto (**FADH₂**)

NADP ossidato (**NADP⁺**) e NADP ridotto (**NADPH**)

Il FAD è in grado di assorbire un po' meno energia del NAD



NAD e FAD hanno come precursori alcune vitamine del gruppo B. Il NAD deriva dalla vitamina B3 (o niacina o vitamina PP = Prevenzione Pellagra), il FAD dalla vitamina B2.

3 Citologia

La **citologia** è la branca della biologia che studia la **cellula**. La cellula è l'unità elementare di ogni vivente e costituisce la più piccola porzione di un organismo in grado di conservare le caratteristiche della vita. Tutti gli esseri viventi sono costituiti da una o più cellule (teoria cellulare).

Negli organismi pluricellulari le cellule si coordinano e formano livelli di organizzazione superiori:

- i **tessuti**, caratterizzati da cellule morfologicamente e funzionalmente specializzate

- gli **organi**, composti da più tessuti tra loro integrati per svolgere specifiche funzioni
- gli **apparati** (o sistemi), nei quali diversi organi interagiscono e si integrano per il compimento di funzioni superiori
- l'**organismo** formato dall'insieme di tutti gli apparati e sistemi.

Ogni elemento di un livello è dotato di capacità che l'elemento del livello inferiore non possiede. Così una singola cellula nervosa è capace di trasmettere impulsi nervosi a un'altra cellula, ma non è in grado di elaborare pensieri.

Strutture come i **virus** e i **prioni** non vengono considerati viventi perché mancano di una organizzazione cellulare.

I biologi studiano le cellule per comprendere le modalità con cui esse si formano a partire dalle molecole e per chiarire i meccanismi del loro funzionamento ed i modi con i quali esse cooperano alla costruzione di organismi complessi come gli esseri umani. La conoscenza delle cellule è alla base, dunque, della comprensione dei processi fisiologici, delle modalità di sviluppo e dei fenomeni di invecchiamento dell'organismo.

In tutti i viventi le cellule condividono alcune caratteristiche fondamentali. Tutte le cellule sono delimitate da una membrana esterna, detta **membrana plasmatica** (o plasmalemma) che racchiude il **citoplasma**. Quest'ultimo è formato da una componente liquida, il **citosol**, contenente acqua, sali minerali e molecole organiche, in cui si trovano immerse strutture dette **organuli** (o organelli) ciascuna preposta ad una particolare funzione.

3.1 Cellule procarioti ed eucarioti

Le cellule, in base alla loro organizzazione interna, possono essere distinte in due grandi categorie: cellule procarioti e cellule eucarioti.

La **cellula procariote** forma gli organismi unicellulari appartenenti al regno delle **monere** (batteri ed alghe azzurre). Esse sono relativamente piccole con dimensioni dell'ordine di 1 μm (1 μm = 1 micron = 10^{-6} m = un milionesimo di metro) ed hanno una struttura interna alquanto semplice quasi priva di organuli. Gli unici organuli presenti sono i ribosomi. Il termine procariote deriva dal greco e significa "prima del nucleo". Il loro DNA si trova infatti libero nel citoplasma senza essere racchiuso da una membrana nucleare. Le cellule procarioti formano solo organismi unicellulari detti anch'essi procarioti. Le cellule procarioti sono le prime forme di vita comparse sulla terra (le prime tracce di attività procariote risalgono a circa 3,9 miliardi di anni fa)

La **cellula eucariote** costituisce tutti gli altri organismi viventi, unicellulari e pluricellulari: i protozoi, le piante, i funghi e gli animali. La sua dimensione è dell'ordine di 10 μm . Il loro volume è quindi dell'ordine di 10^3 micron cubici, contro un volume di 1 micron cubico delle cellule procarioti. In altre parole una cellula eucariote è mediamente 1000 volte più grande di una cellula procariote. In essa il DNA è racchiuso da una membrana, formando così un particolare organulo chiamato **nucleo**. Il termine eucariote significa "nucleo ben formato". Possiede organuli immersi nel citoplasma, ognuno deputato a svolgere una particolare funzione che la rendono enormemente più complessa rispetto ad una cellula procariote. D'altra parte le cellule eucarioti si sono evolute a partire da antenati procarioti ed hanno impiegato un intervallo di tempo enorme per formarsi: le prime tracce di organismi unicellulari eucarioti risalgono a circa 1,4 miliardi di anni fa. Gli organismi formati da cellule eucarioti sono detti eucarioti.

Nel corso dell'evoluzione le dimensioni delle cellule si sono conservate relativamente piccole per la necessità di mantenere elevata la loro efficienza attraverso un rapporto ottimale con l'ambiente, da cui la cellula trae le sostanze nutritizie ed al quale cede le sostanze di rifiuto

Quando infatti una cellula si accresce, il volume aumenta più rapidamente della superficie. Se, per esempio, si ipotizza che la cellula abbia una forma sferica, il **rapporto superficie/volume** diminuisce rapidamente all'aumentare del raggio. Il volume cresce infatti in ragione della terza potenza del raggio ($\frac{4}{3}\pi R^3$), mentre la superficie in ragione della seconda potenza ($4\pi R^2$).

Ciò determina uno squilibrio nutrizionale sempre maggiore perché la superficie non riesce più a garantire scambi con l'ambiente adeguati alla massa cellulare.

Inoltre in una cellula troppo grande, le sostanze nutritive richiederebbero tempi troppo lunghi per diffondere dalla superficie all'interno e altrettanto inefficace risulterebbe l'allontanamento delle sostanze di rifiuto. Si è visto infatti che, nella maggior parte delle cellule l'attività biochimica si limita a 15-25 micron al di sotto della superficie cellulare. La stessa attività di controllo metabolico da parte del nucleo sul citoplasma circostante risulta inefficiente oltre una certa distanza.

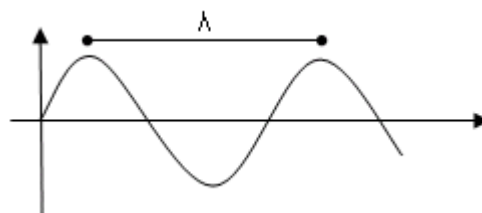
Trova così una spiegazione il fatto che le cellule caratterizzate da una intensa attività metabolica, che presentano quindi rapidi scambi con l'ambiente e con il loro nucleo, sono tendenzialmente più piccole rispetto alle cellule meno attive.

Esistono eccezioni che confermano la regola. Le cellule muscolari (fibre muscolari), ad esempio, presentano una lunghezza di alcuni centimetri, ma conservano l'efficienza mantenendo un buon rapporto superficie/volume grazie alla loro forma allungata ed inoltre sono cellule polinucleate (ogni nucleo gestisce la regione di citoplasma circostante).

3.2 Il microscopio

Le dimensioni delle cellule sono al di sotto del potere risolutivo del nostro occhio (0,1 mm). Il potere risolutivo di uno strumento è la distanza minima al di sotto della quale due punti non possono essere "risolti", cioè visti come separati. Per poter risolvere e quindi 'vedere' oggetti le cui dimensioni siano inferiori al potere risolutivo dell'occhio, dobbiamo ricorrere a strumenti ottici dotati di un potere risolutivo maggiore.

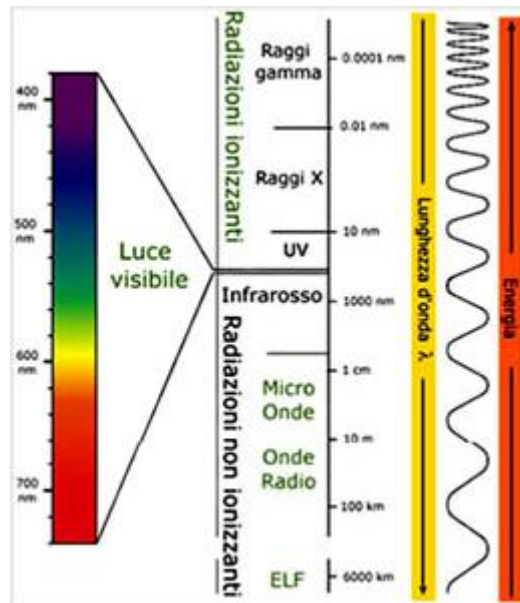
Il più semplice tra essi è il **microscopio ottico**. Il potere di risoluzione del microscopio ottico è di $0,2 \mu\text{m}$, con un aumento del potere di risoluzione rispetto a quello dell'occhio umano di circa 3 ordini di grandezza (1000 x). Questo limite non è di natura tecnico-costruttiva, ma dipende essenzialmente dalla lunghezza d'onda della luce visibile ($0,4\text{-}0,7 \mu\text{m}$). Per poter vedere un oggetto noi dobbiamo infatti "illuminarlo", inviargli cioè una radiazione luminosa, la quale deve essere riflessa dall'oggetto e quindi colpire il nostro occhio. La radiazione luminosa è un'onda (elettromagnetica) le cui caratteristiche dipendono dalla sua lunghezza d'onda λ ($\lambda = \text{lambd} = \text{distanza tra due creste successive}$).



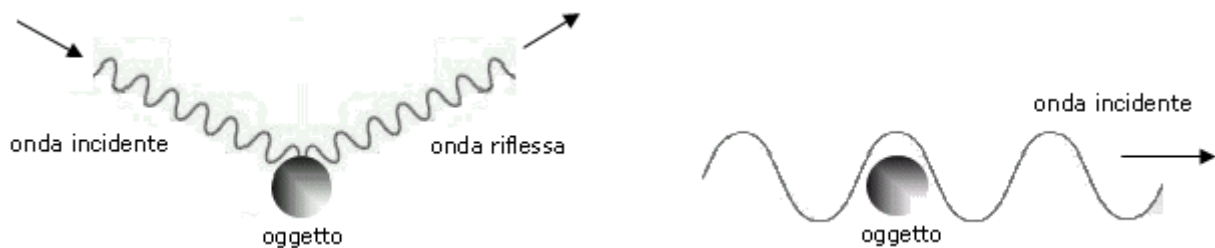
Le lunghezze d'onda che vanno da 0,4 a 0,7 micron risultano visibili all'occhio umano e vengono percepite come colori diversi (dal rosso con $\lambda = 0,7 \mu\text{m}$ fino al violetto con $\lambda = 0,4 \mu\text{m}$). Lunghezze d'onda maggiori del rosso non sono visibili all'occhio umano e sono gli infrarossi, le microonde e le onde radio.

Anche le lunghezze d'onda minori del blu non sono visibili all'occhio umano e sono gli ultravioletti, i raggi X ed i raggi gamma.

La radiazione elettromagnetica trasporta energia che risulta essere inversamente proporzionale alla sua lunghezza d'onda (i raggi X sono più energetici e quindi più pericolosi delle onde radio)



Un oggetto, investito da un'onda, la riflette solo se le sue dimensioni sono maggiori della lunghezza d'onda utilizzata per illuminarlo. Questo è il motivo per il quale il microscopio ottico non ci permette di vedere oggetti più piccoli della lunghezza d'onda della luce visibile.



Il **microscopio elettronico** si basa essenzialmente sugli stessi principi di quello ottico, ma fornisce ingrandimenti maggiori, anche se le tecniche di impiego, allestimento dei preparati e interpretazione sono più complessi e costosi.

La sorgente luminosa è sostituita da un fascio di elettroni accelerati nel vuoto. Le lenti sono sostituite da campi magnetici che hanno un effetto convergente sugli elettroni. Gli elettroni si associano ad una lunghezza d'onda molto più piccola rispetto a quella dello spettro visibile e ciò determina un aumento del potere di risoluzione fino a circa 10 \AA con un aumento del potere di risoluzione rispetto a quello dell'occhio umano di circa 6 ordini di grandezza ($1.000.000 \times$). Dal momento che il materiale da esaminare è posto sotto vuoto, esso deve essere preventivamente disidratato e ciò impedisce l'uso del microscopio elettronico su preparati viventi. Inoltre le sezioni di tessuto devono essere sottilissime per consentire il passaggio degli elettroni il cui potere di penetrazione è molto basso. L'immagine fornita è invisibile all'occhio umano, ma può essere fotografata e raccolta su uno schermo fluorescente che emette luce visibile sotto l'urto degli elettroni provenienti dal preparato. Essa risulta in bianco e nero con varie tonalità di grigio in corrispondenza della maggiore o minore trasparenza agli elettroni delle strutture cellulari (ma sono possibili tecniche di colorazione in falsi colori).

Il microscopio elettronico può essere a trasmissione (TEM) o a scansione (SEM)

Nel **microscopio elettronico a trasmissione** gli elettroni attraversano il preparato e vengono deviati diversamente dagli atomi del corpo da esaminare, portando alla formazione di un'immagine differenziata. Poiché i preparati biologici sono spesso costituiti da atomi più o meno tutti dello stesso peso è necessario aggiungere particolari coloranti contenenti atomi pesanti in grado di deviare il fascio di elettroni.

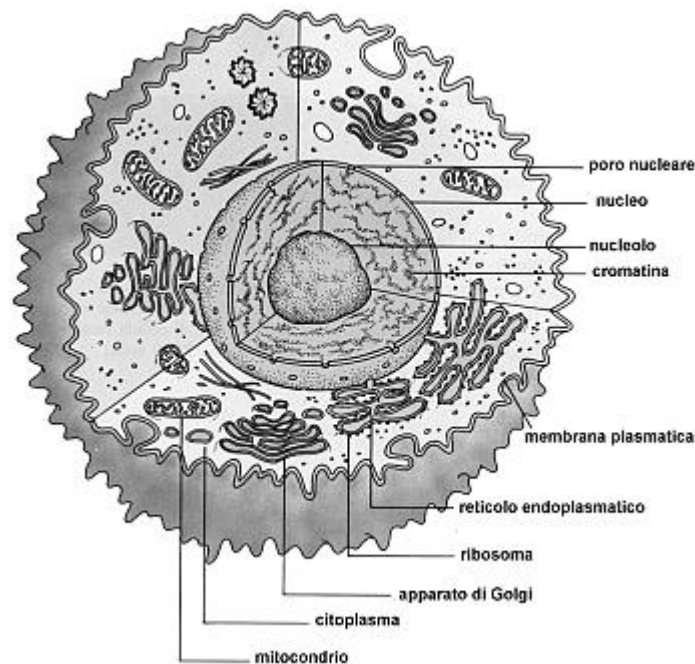
Nel **microscopio elettronico a scansione** gli elettroni incidono sulla materia, determinando l'emissione di elettroni secondari che, raccolti, forniscono immagini dettagliate della superficie degli oggetti. Dalle zone in rilievo vengono emessi più elettroni secondari che dalle zone depresse. Ne deriva un'immagine tridimensionale della superficie del campione. Il microscopio a scansione permette di analizzare in superficie cellule non sezionate il cui spessore è quindi

notevolmente più elevato di quello dei campioni usati negli altri tipi di microscopi elettronici. La qualità delle immagini in 3D ripaga ampiamente del più ridotto potere risolutivo ($0.01\ \mu\text{m}$) di questo microscopio.

4 La cellula eucariote animale

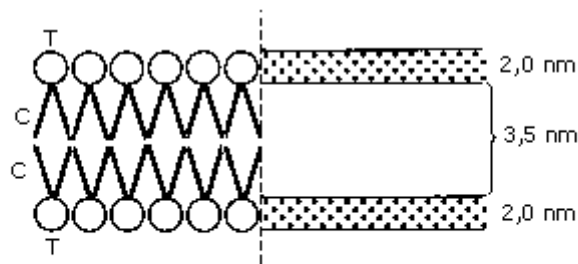
La cellula eucariote animale è formata da una **membrana plasmatica** esterna che racchiude il **citoplasma** ed il **nucleo**.

Il citoplasma è costituito da una frazione liquida, il **citosol**, e dagli **organuli** cellulari in essa sospesi.



4.1 Membrana plasmatica

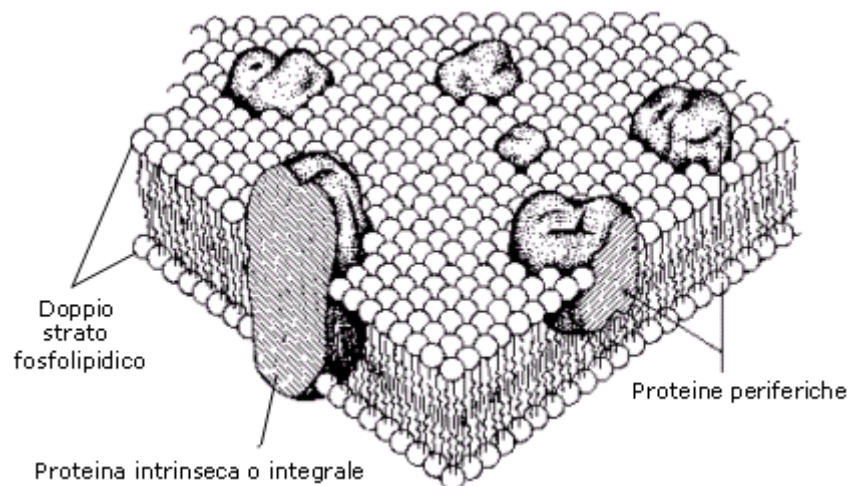
La membrana plasmatica (o plasmalemma) racchiude il contenuto della cellula e costituisce una barriera fra l'ambiente intracellulare (ambiente interno) e quello extracellulare (ambiente esterno). È costituita da un doppio strato continuo di fosfolipidi, dello spessore di 8-10 nm (un nanometro corrisponde a un milionesimo di metro = 10^{-9} m), attraversata in parte o completamente da numerose proteine. È inoltre presente una piccola percentuale di glucidi, in forma di glicoproteine e glicolipidi, e di molecole di colesterolo che la stabilizzano. I fosfolipidi sono lipidi formati da una "testa" di glicerolo legato ad un gruppo fosfato e a due "code" di acidi grassi. Come conseguenza della presenza di acqua sia all'interno che all'esterno della cellula, i fosfolipidi rivolgono le teste polari verso le due superfici della membrana, mentre le code apolari sono rivolte verso la parte interna del doppio strato.



Membrana plasmatica in microscopia elettronica a trasmissione.
Le aree punteggiate dello spessore di circa 2 nm sono dovute alla disposizione allineata delle teste dei fosfolipidi (T). Nello spazio chiaro interposto tra le due superfici si giustappongono le code dei fosfolipidi (C).

In condizioni fisiologiche, sia le molecole lipidiche sia quelle proteiche in esse immerse sono in grado di muoversi liberamente (**modello a mosaico fluido**). Le caratteristiche di fluidità consentono alla membrana di manifestare proprietà autosigillanti attraverso le quali può autoripararsi, ossia richiudersi rapidamente ed automaticamente qualora in essa si produca un foro, automaticamente. La capacità autosigillarsi permette inoltre alle membrane di fondersi e scindersi, senza che si abbiano perdite di materiale cellulare, nel corso di processi fondamentali per la vita e l'attività delle cellule (divisione cellulare, esocitosi, endocitosi).

La membrana rappresenta l'interfaccia della cellula con l'ambiente esterno, attraverso la quale avvengono e vengono regolati tutti gli scambi di materiali ed informazioni. Essa ha dunque funzione di **trasporto**, di **interazione ed integrazione con l'ambiente** e di **locomozione**.



4.1.1 membrana: trasporto

La membrana plasmatica è una barriera selettivamente permeabile. Il doppio strato fosfolipidico permette infatti il libero passaggio solo dell'acqua, di gas come O_2 e CO_2 e di piccole molecole liposolubili, mentre risulta impermeabile per ioni e molecole idrosolubili.

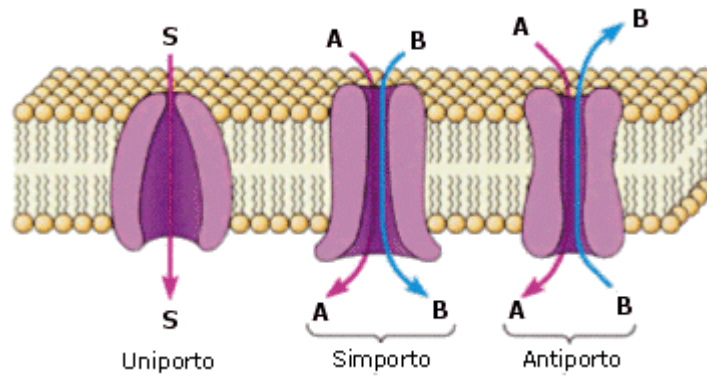
Il trasporto dei materiali per i quali la membrana non è permeabile viene effettuato dalla cellula utilizzando particolari proteine trasportatrici transmembraniche (*carriers*) e/o attraverso fenomeni di motilità della membrana (*esocitosi* ed *endocitosi*).

Le **proteine trasportatrici** sono proteine in struttura terziaria in grado di riconoscere in modo specifico la sostanza chimica da trasportare (substrato).. Esistono tre modalità di trasporto:

Uniporto: una sola molecola in un unico verso

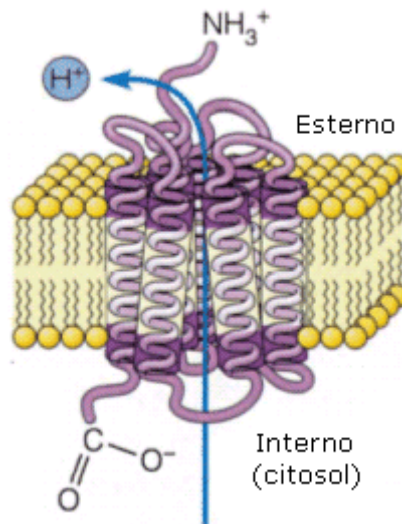
Simporto: due molecole in un stesso verso

Antiporto: due molecole in versi opposti, una in ingresso e l'altra in uscita



Le proteine trasportatrici si dividono in *pompe* e *canali*

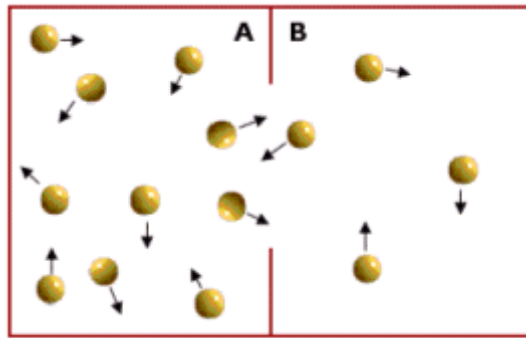
1) Le **pompe** presiedono al trasporto attivo di molecole. Nel **trasporto attivo** il passaggio di una molecola avviene con consumo di energia (idrolisi ATP), anche contro il gradiente di concentrazione.



Batteriorodopsina

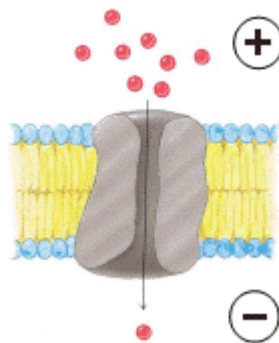
La batteriorodopsina è una pompa protonica (protone = ione H^+) che alcuni batteri utilizzano per catturare l'energia luminosa. È una proteina transmembranica costituita da 7 alfa-eliche in associazione con una molecola di retinale

2) I **canali** presiedono al trasporto passivo di molecole. Nel **trasporto passivo** il passaggio di una molecola avviene per diffusione senza consumo di energia, secondo il gradiente di concentrazione. La **diffusione** è il fenomeno fisico per il quale un **fluido** (gas o liquido), come conseguenza del moto disordinato delle molecole che lo costituiscono, tende a "sparpagliarsi" occupando tutto lo spazio disponibile. La conseguenza, a livello macroscopico, è la tendenza spontanea di un fluido a muoversi (*diffondere*) da zone a maggior concentrazione verso zone a minor concentrazione. Si dice appunto che tale movimento avviene "secondo il gradiente di concentrazione". Il fenomeno si giustifica in termini di probabilità.



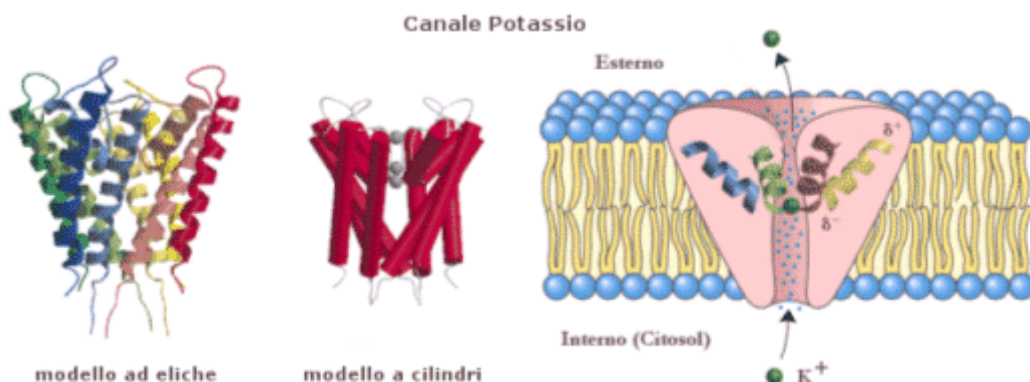
Le particelle si muovono in tutte le direzioni e quindi in ogni istante alcune passeranno dalla regione **A** alla regione **B** e viceversa. Ma poiché vi sono più particelle in A che in B vi sarà una maggior probabilità che si muovano da A verso B, piuttosto che da B verso A. Dunque, finché le particelle non saranno distribuite omogeneamente vi saranno più particelle che passano da A verso B che particelle che passano da B verso A. Ciò genera un movimento netto verso B (diffusione) che porta ad eliminare la distribuzione spaziale non omogenea.

Ovviamente i canali possono funzionare solo se tra l'interno e l'esterno della cellula esiste una differenza di concentrazione.



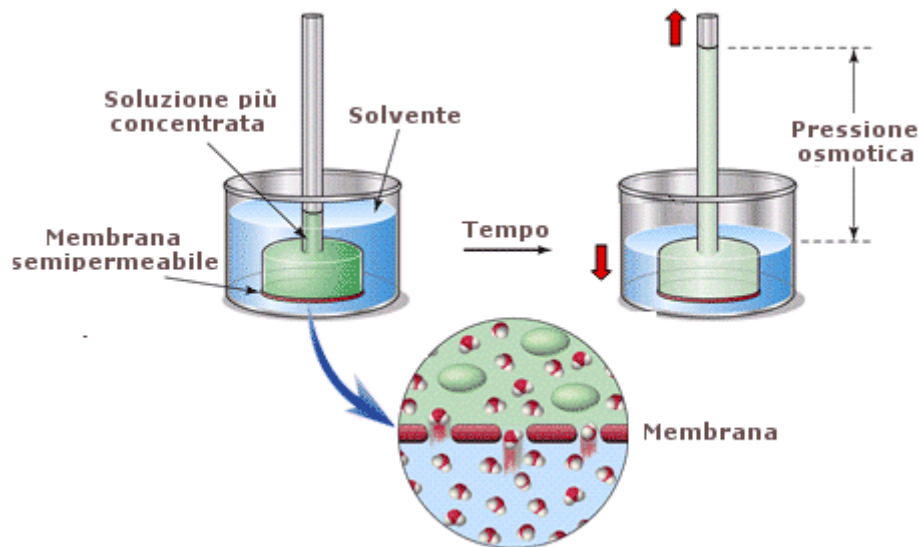
La cellula è in grado di aprire o chiudere i suoi canali a seconda delle necessità.

Avvalendosi di questi meccanismi di trasporto, la cellula può mantenere la concentrazione interna delle sostanze chimiche su valori diversi da quelli che caratterizzano l'ambiente esterno.



Come conseguenza delle caratteristiche di semipermeabilità della sua membrana, la cellula è soggetta a fenomeni osmotici. L'**osmosi** è un fenomeno che si manifesta quando una membrana selettivamente permeabile (semipermeabile) separa due soluzioni a diversa concentrazione. La membrana è tale per cui solo le molecole dell'acqua possono liberamente

diffondere, mentre la diffusione del soluto è impedita. In queste condizioni l'acqua tende a diffondere dalla soluzione più diluita (dove è presente in quantità maggiore) alla soluzione più concentrata (dove è presente in quantità minore). Il flusso dell'acqua verso la soluzione più concentrata produce una vera e propria pressione (pressione = forza/superficie = forza che agisce sull'unità di superficie), detta **pressione osmotica**. Il valore della pressione osmotica è direttamente proporzionale alla differenza di concentrazione tra le due soluzioni. Nel caso le due soluzioni poste a contatto siano contenute in recipienti aperti il flusso d'acqua dall'una all'altra produrrà un dislivello che potrà essere utilizzato come misura della pressione osmotica (ricordiamo che 10 metri d'acqua equivalgono alla pressione di 1 atmosfera).

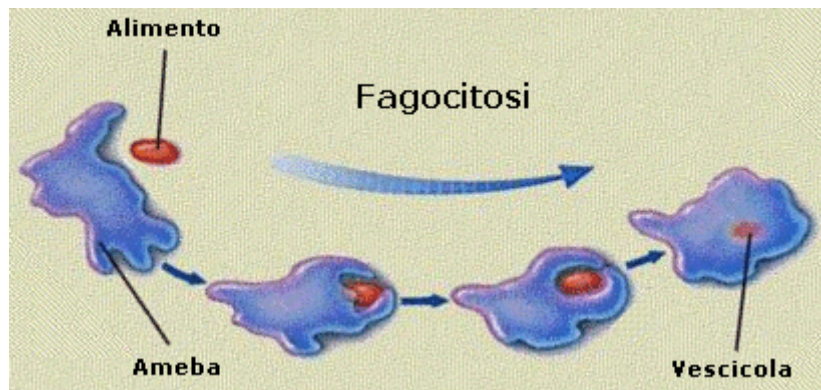


I fenomeni osmotici possono creare problemi alle cellule animali. Poste in un ambiente ipertonico (tono = concentrazione; ipertonico = a concentrazione maggiore) possono facilmente disidratarsi. Poste in un ambiente ipotonico (a concentrazione minore) possono assorbire acqua fino alla lisi cellulare. Ne sono un esempio i nostri globuli rossi che sono immersi in un mezzo isotonico (plasma). Le cellule vegetali che, esternamente alla loro membrana plasmatica, sono rivestite di una robusta parete di cellulosa, sono invece in grado di sfruttare i fenomeni osmotici. Le cellule vegetali mantengono infatti il loro citosol leggermente ipertonico rispetto all'ambiente circostante. In questo modo richiamano acqua per osmosi e risultano soggette ad una leggera pressione, detta **turgore cellulare**, che le mantiene gonfie. Il turgore cellulare è fondamentale per mantenere distesi i tessuti vegetali verdi, come le foglie, che non presentano strutture di sostegno efficaci.

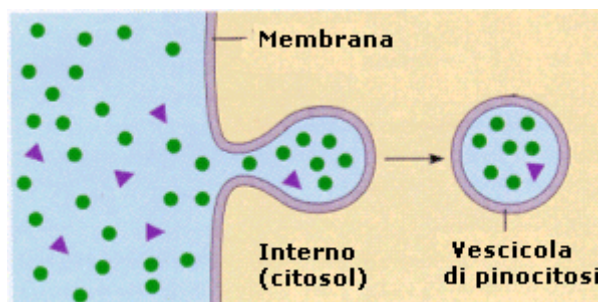
3) Alcune cellule eucarioti sono in grado di importare ed esportare considerevoli quantità di materiali sfruttando la **motilità** e la fluidità della loro membrana, la quale è in grado di "deformarsi" producendo introflessioni ed estroflessioni. Tali deformazioni della membrana sono note come **movimenti ameboidi** (l'ameba è un organismo unicellulare in cui tale caratteristica è particolarmente sviluppata).

Il processo di importazione è detto **endocitosi** ed avviene grazie alla capacità della cellula di avvolgere il materiale da introdurre con una piccola porzione di membrana che si stacca come una goccia (**vescicola di endocitosi** o **endosoma**) all'interno del citosol. Si parla di **endocitosi mediata da recettori** quando la sostanza che deve essere inglobata nella cellula, viene riconosciuta e legata da specifici recettori situati sulla superficie della membrana. Si viene a formare in questo modo un complesso recettore-ligando che funge da attivatore del processo di endocitosi. Se il materiale da introdurre è solido si parla di fagocitosi, se è liquido di pinocitosi.

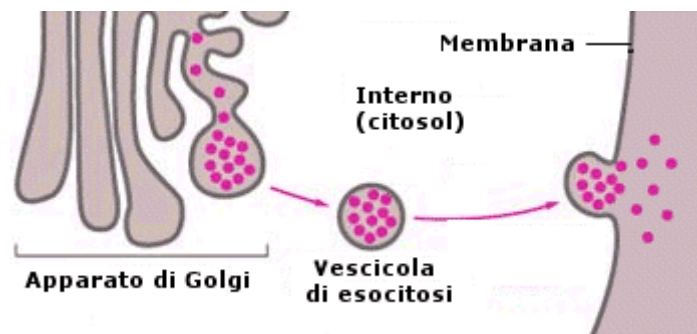
La **fagocitosi** avviene grazie alla crescita di due estroflessioni, dette **pseudopodi** (pseudopodio = falso piede), attorno al materiale da inglobare. I pseudopodi crescono fino ad avvolgere il materiale e a fondersi alle sue spalle inglobandolo in una vescicola di fagocitosi. In questo modo, ad esempio, i macrofagi, un particolare tipo di globuli bianchi del nostro organismo inglobano e distruggono i batteri ed eliminano cellule morte e strutture estranee.



La **pinocitosi** si produce grazie alla formazione di minuscole introflessioni della membrana all'interno delle quali viene risucchiato il liquido da introdurre. La membrana successivamente si richiude liberando nel citosol la vescicola di pinocitosi.



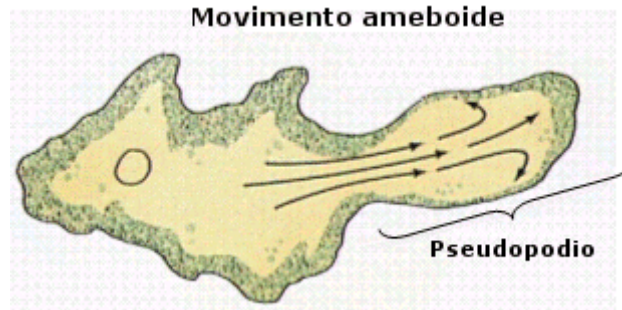
Il processo di esportazione è detto **esocitosi** ed avviene grazie alla capacità della cellula di avvolgere il materiale da espellere con una piccola porzione di membrana (**vescicola di esocitosi**) che si stacca dai sistemi interni di membrana (apparato del Golgi) e si va a fondere con la membrana plasmatica. In tal modo il contenuto delle vescicole di esocitosi viene versato all'esterno.



La cellula utilizza l'esocitosi sia per eliminare le sostanze di rifiuto (**escrezione**), ma anche per effettuare la **secrezione** di sostanze utili, come segnali chimici (neurotrasmettitori, ormoni etc) o sostanze aggressive per attaccare altre cellule (enzimi digestivi, tossine etc).

4.1.2 Membrana: locomozione

La cellula può utilizzare la motilità di membrana anche per la locomozione, per muoversi cioè su di un supporto. In questo caso il movimento ameboide avviene con la crescita di uno pseudopodio nella direzione del movimento. Una volta raggiunta la sua massima estensione lo pseudopodio fa presa sul supporto e la cellula viene richiamata in avanti (un po' come fanno le lumache, per intenderci).



Ovviamente la locomozione è una caratteristica che si trova prevalentemente in organismi unicellulari. Le cellule appartenenti ad un organismo pluricellulare sono strettamente addossate l'una all'altra e non si muovono. Fanno comunque eccezione alcune cellule del sistema immunitario (macrofagi e granulociti).

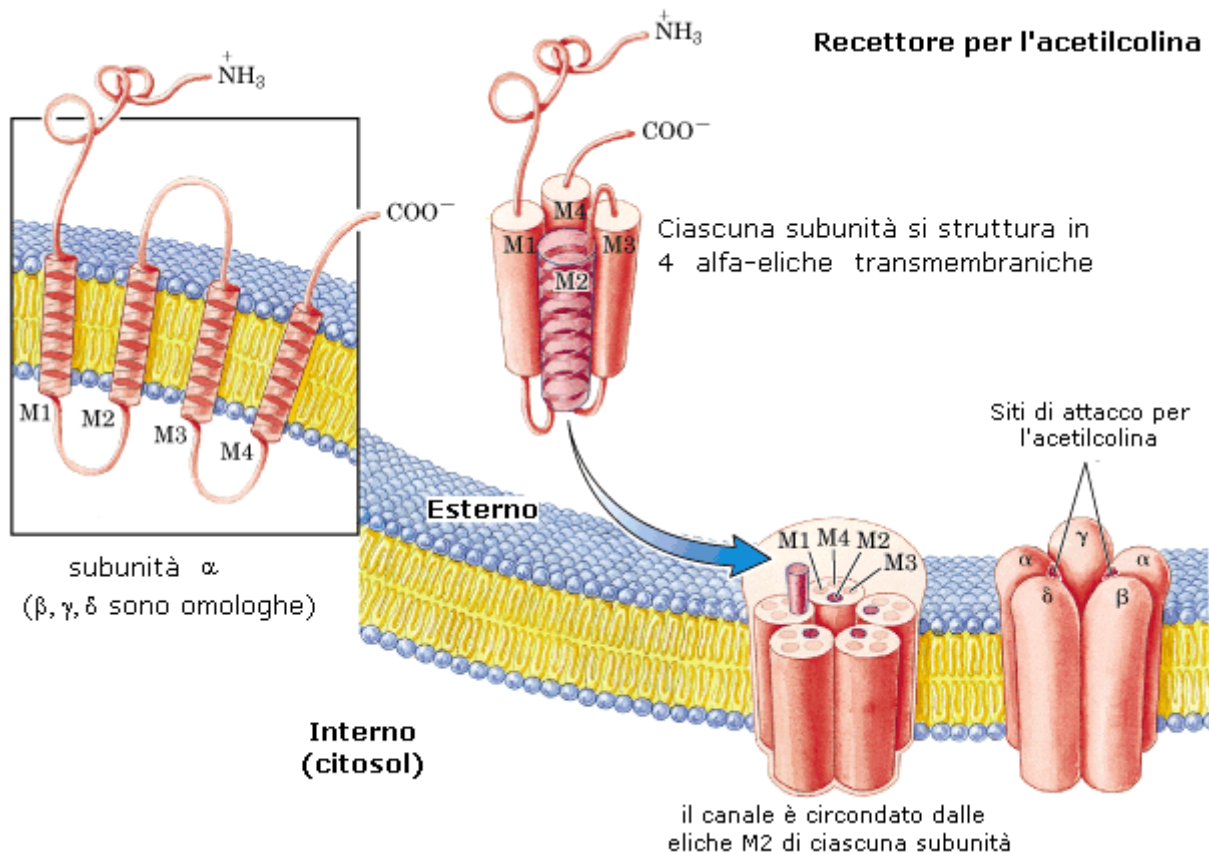
I movimenti ameboidi non sono l'unica possibilità di locomozione per la cellula. Alcune cellule presentano infatti sulla loro membrana delle estroflessioni citoplasmatiche filiformi (**ciglia** e **flagelli**) che possono essere utilizzate per la locomozione. Di tali strutture parleremo più avanti.

4.1.3 Membrana: interazione ed integrazione con l'ambiente

La membrana rappresenta anche il mezzo con cui la cellula si "fa riconoscere" dalle altre cellule, tramite molecole dette *marcatori*, riconosce segnali chimici, tramite molecole dette *recettori*, è "sensibile" agli stimoli tramite la sua *eccitabilità* e si collega ad altre cellule negli organismi pluricellulari tramite *giunzioni* proteiche.

1) I **marcatori** di membrana sono in genere proteine legate a carboidrati (glicoproteine), che funzionano come una sorta di "carta d'identità" in base alla quale la cellula viene riconosciuta come facente parte del sé (**self**), ossia dell'organismo stesso, e non viene attaccata dal sistema immunitario, oppure come estranea (not self) e come tale, da distruggere. L'insieme delle molecole che caratterizzano i diversi tipi di cellule e di tessuti dell'organismo viene chiamato complesso maggiore di istocompatibilità (MHC). Esso è responsabile del fatto che i tessuti trapiantati agiscono da antigeni e vengono attaccati dall'organismo ricevente (fenomeno del rigetto).

2) I **recettori** di membrana sono in genere anch'essi costituiti da molecole proteiche in grado di riconoscere e legarsi in modo specifico e selettivo a particolari sostanze chimiche che operano come segnali, principalmente nervosi (acetilcolina, adrenalina, serotonina etc) ed ormonali. Una volta legati, il complesso recettore-segnale innesca un meccanismo di **amplificazione** dovuto all'azione di un enzima legato al recettore che provoca una cascata di reazioni all'interno della cellula.



3) **Eccitabilità**. In condizioni normali la membrana cellulare risulta polarizzata, con un eccesso di ioni positivi sulla superficie esterna ed un eccesso di ioni negativi sulla superficie interna. La differenza di potenziale tra le due facce è di circa -70 millivolt, (il segno negativo è convenzionale) ed è chiamato **potenziale di riposo**. Questo stato di polarizzazione è alla base della capacità della cellula di percepire stimoli esterni e di reagire ad essi. Questa "sensibilità" della cellula viene definita **eccitabilità**. La membrana si eccita quando, come conseguenza di uno stimolo, inverte il suo potenziale (**depolarizzazione**) da -70 a circa +30 mV (**potenziale di azione**). L'eccitabilità di membrana è alla base del funzionamento delle cellule nervose e muscolari. Il potenziale di riposo viene generato dall'azione congiunta della **pompa Sodio-Potassio** e dei relativi canali.

La pompa Na^+/K^+ è una proteina intrinseca che lavora associata ad una ATPasi che, idrolizzando ATP, libera l'energia necessaria per il trasporto (trasporto attivo). In presenza di ATP, la pompa cambia conformazione e si lega internamente con 3 ioni Na^+ ed esternamente con 2 ioni K^+ . Ad ogni idrolisi di una molecola di ATP, 3 ioni sodio vengono pompati verso l'esterno della cellula, mentre 2 ioni potassio verso l'interno. La membrana cellulare è praticamente impermeabile allo ione sodio (i canali del Sodio sono chiusi), che rimane quindi per lo più segregato nello spazio extra-cellulare, mentre è permeabile allo ione potassio (i canali del potassio sono aperti), che è quindi libero di ridiffondere all'esterno. Questa distribuzione ineguale di cariche elettriche fa sì che l'interno della cellula sia carico negativamente rispetto all'esterno caricato positivamente.

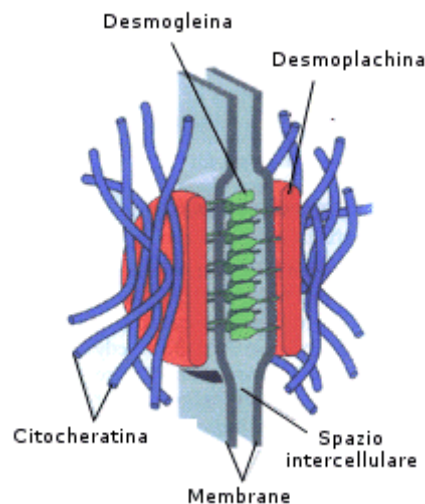
4) In un organismo pluricellulare le cellule si collegano l'una all'altra mediante **giunzioni intercellulari**. Nelle piante superiori le cellule sono connesse mediante "ponti" di citoplasma denominati **plasmodesmi**.

Nella maggior parte degli animali, le cellule sono legate fra loro mediante una rete a maglie relativamente larghe, costituita da grosse molecole organiche (la cosiddetta matrice extracellulare) e mediante punti di adesione fra le membrane plasmatiche (giunzioni cellulari).

Si classificano tre tipi di giunzioni cellulari: giunzioni ancoranti, giunzioni comunicanti e giunzioni occludenti.

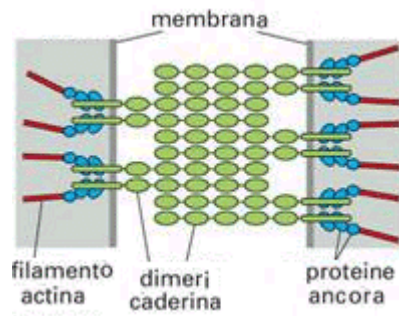
a) Le **giunzioni ancoranti** (o *giunzioni adesive*) provvedono a mantenere le cellule in posizioni fisse all'interno dei tessuti tramite connessioni proteiche. Ne esistono di tre tipi: i *desmosomi*, le *giunzioni intermedie* e le *giunzioni settate*. Queste ultime sono tipiche degli invertebrati.

I **desmosomi** (chiamati anche *macula adherens*) sono in genere strutture di forma circolare o ellittica. Nella regione contenente un desmosoma è possibile osservare uno spesso strato di materiale denso, la *placca*, posta immediatamente al di sotto della membrana plasmatica sui due versanti della giunzione. A partire dalla placca, e per una certa distanza in direzione del citoplasma sottostante, si dipartono strutture citoscheletriche ben definite, i filamenti intermedi, detti tonofilamenti, che fungono da ancora citoplasmatica per la giunzione. A seconda del tipo di cellula, essi possono essere costituiti da citocheratina o da vimentina. Le membrane plasmatiche delle cellule che hanno in comune un desmosoma sono tra loro parallele, più o meno allineate e separate da uno spazio di ampiezza costante. Lo spazio extracellulare che le separa è occupato da un fitto intreccio di filamenti sottili e di materiale granulare che va sotto il nome di nucleo del desmosoma. I desmosomi di animali e tessuti diversi contengono proteine rappresentative che sono riscontrabili in modo costante. Tra queste, due delle più grandi, le desmoplachine I e II sono molecole strutturalmente correlate e risultano essere associate alle placche. Un altro gruppo di glicoproteine, le desmogleine, che sono membri della famiglia delle caderine, fungono da ponte citoplasmatico tra le placche ed il materiale extracellulare. Negli animali pluricellulari, i desmosomi congiungono molti tipi diversi di cellule. Queste strutture sono particolarmente abbondanti nei tessuti che sono comunemente sottoposti a stress meccanici in senso laterale o da stiramento, come le cellule dell'epidermide e quelle degli epiteli che rivestono la superficie interna delle cavità corporee.



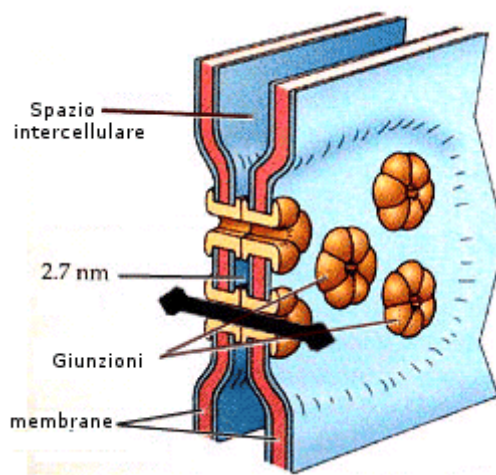
Le **giunzione intermedie** (o *giunzioni aderenti* o *zonulae adherens*), congiungono le cellule di alcuni tessuti animali, come ad esempio quelle del muscolo cardiaco e delle membrane che avvolgono gli organi e che rivestono le cavità corporee. Come nel caso dei desmosomi, anche nella giunzione aderente la regione sottostante la membrana plasmatica è ispessita e dà origine ad una placca. Le placche delle giunzioni aderenti non hanno l'aspetto di uno strato denso e compatto ma piuttosto quello di un reticolo a struttura irregolare. Dalle placche si dipartono in direzione del citoplasma sottostante dei microfilamenti di actina che ancorano la giunzione al citoscheletro. Le placche contengono elevate concentrazioni di vinculina e di altre proteine che normalmente hanno un ruolo di collegamento tra elementi presenti nella

membrana plasmatica ed i microfilamenti di actina. Le due placche si saldano nello spazio intercellulare attraverso una maglia proteica di caderina.



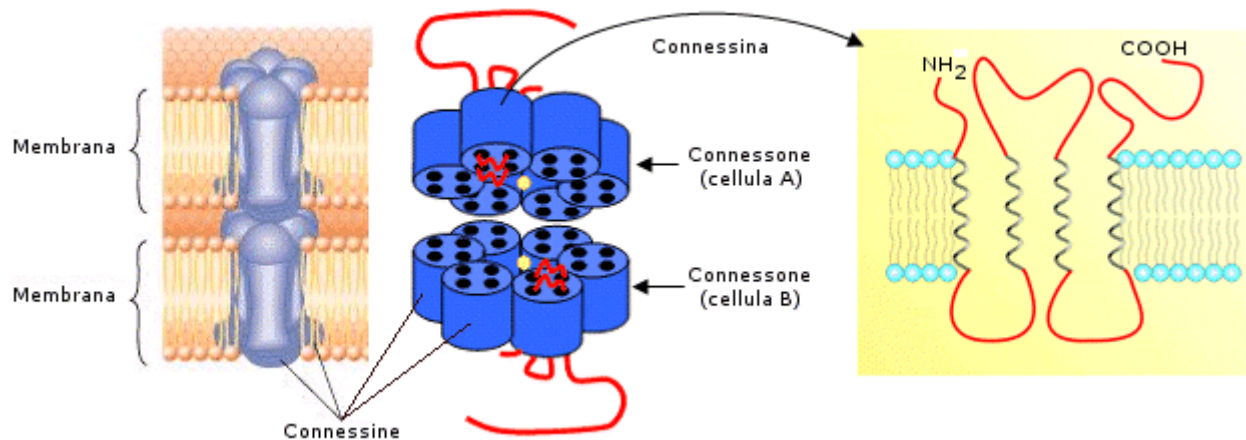
Le **giunzioni settate** (da *septum* = parete) hanno questo nome in quanto, in sezione trasversale, le membrane che costituiscono le giunzioni risultano essere collegate, nella regione extracellulare, da segmenti trasversali, o setti, a spaziatura regolare. Lo spazio che separa le membrane è caratterizzato da una distanza estremamente regolare, variabile da 15 a 17 nm, dovuta alla presenza di segmenti densi che si alternano a zone chiare, per tutta la lunghezza della giunzione. Tutte le giunzioni settate sono dotate, nella regione extracellulare, di questi segmenti trasversali caratteristici, ma la morfologia dettagliata dei setti, le loro dimensioni e le distanze di spaziatura assumono valori caratteristici in ciascun *phylum* degli invertebrati.

b) Le **giunzioni comunicanti** (o *giunzioni serrate* o gap junction) costituiscono un passaggio aperto attraverso cui ioni e piccole molecole possono direttamente passare da una cellula all'altra. In questo tipo di giunzioni, le membrane plasmatiche delle due cellule adiacenti sono separate da uno spazio molto regolare di 2,7 nm. Il termine usato in inglese, gap, sta a indicare questa separazione sorprendentemente regolare. In queste strutture è stata messa in evidenza la presenza di un grande numero di cilindri cavi disposti con l'asse maggiore perpendicolare alla superficie delle cellule che attraversano lo spazio intercellulare delle giunzioni comunicanti.

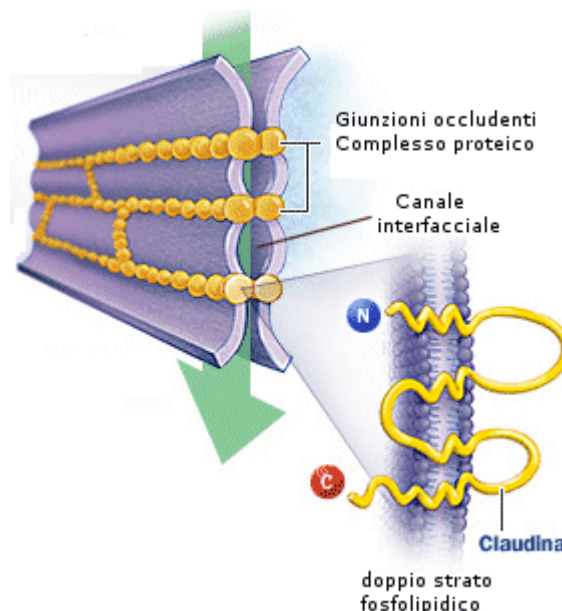


Nei vertebrati, lo stretto canale che si trova al centro del cilindro ha un diametro di circa 1,5 nm nel punto più stretto, dimensione sufficiente a permettere il libero transito di ioni e di piccole molecole. Nelle giunzioni i cilindri appartenenti a due membrane plasmatiche adiacenti si incontrano coda contro coda, e costituiscono un passaggio diretto tra una cellula e l'altra, ma isolano la giunzione rispetto ai liquidi extracellulari. Ogni cilindro della giunzione, definito connessione, è costituito da un numero variabile da 4 a 6 molecole di una proteina detta connessina. A seconda del tipo di cellula dal quale vengono isolate, il peso molecolare delle connessine varia. Le giunzioni comunicanti di un determinato tipo di tessuto possono

contenere un unico tipo di connessina o una miscela di due o più tipi diversi. Nonostante le differenze di dimensioni, tutte le connessine hanno una struttura analoga che comprende quattro regioni transmembratiche ad alfa-elica. L'apertura e la chiusura dei canali è regolata dalle cellule. Il sottile strato tra le due cellule impedisce il passaggio di grosse molecole. Sono presenti nel muscolo cardiaco e nei tessuti muscolari lisci.



c) Le **giunzioni occludenti** (o giunzioni strette o tight junction) hanno il compito di chiudere gli spazi intercellulari alla diffusione, in quanto formano una specie di barriera che impedisce il flusso diretto di molecole e di ioni da una cellula all'altra. Le due membrane cellulari sono strettamente cucite insieme da una proteina di membrana (claudina). Sono le giunzioni più forti perché, oltre a solidità meccanica, impediscono il passaggio di acqua e soluti tra le cellule, formando un sigillo che impedisce il passaggio di sostanze fra il dominio extra-cellulare apicale e il dominio basolaterale. Sono poste ad esempio tra le cellule che rivestono l'apparato digerente, impedendo agli acidi ed agli enzimi di danneggiare i tessuti sottostanti.



Spesso le giunzioni si trovano coordinate in **complessi giunzionali**. Un singolo complesso giunzionale è formato da una giunzione occludente, da una giunzione intermedia, da un desmosoma e da una giunzione serrata.

Nelle cellule animali, la membrana plasmatica non presenta generalmente strati esterni di rivestimento. Nei batteri e nei vegetali, invece, all'esterno della membrana si trova una **parete**

rigida, alquanto spessa e robusta, costituita da polisaccaridi complessi (nel caso delle piante superiori, soprattutto da cellulosa). Tale struttura nei batteri ha soprattutto una funzione protettiva; nei vegetali, oltre a questa funzione, la parete svolge un ruolo di sostegno e serve a mantenere la forma tipica della cellula. La parete limita i movimenti della cellula, come pure l'ingresso e la fuoriuscita di materiali.

4.2 Citoplasma e citosol

L'intero volume della cellula, con esclusione del nucleo, è occupato dal citoplasma. Questo comprende una soluzione acquosa concentrata, denominata **citosol**, nella quale si trovano sospesi gli **organuli** cellulari.

Il citosol è un gel acquoso, contenente molecole di varie dimensioni. Costituisce il sito di molte funzioni importanti, come la demolizione delle molecole e la sintesi di numerose macromolecole che sono le unità costitutive della cellula. Molte molecole presenti nel citosol sono libere di muoversi per tutte le regioni della cellula; altre hanno una minore libertà di movimento, poiché fanno parte di strutture ordinate, gli organuli, che determinano nella cellula una compartimentazione utile allo svolgimento delle reazioni metaboliche.

Organuli della cellula eucariote

Nel citoplasma troviamo diversi organuli cellulari i quali possono essere raggruppati in *sistemi di membrana*, *mitocondri*, *ribosomi*, *sistema citoscheletrico*

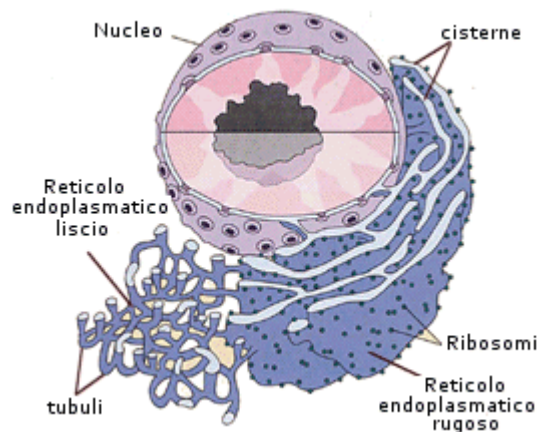
Sistemi di membrane

Il citosol è invaso da una complessa rete di membrane e vescicole membranose. Costituiscono il sistema interno di membrane (endomembrane) della cellula eucariote: il reticolo endoplasmatico, l'apparato di Golgi, i lisosomi ed i perossisomi

4.3 Reticolo endoplasmatico

Il **reticolo endoplasmatico** (RE) è il sistema di membrane più esteso della cellula ed è costituito da una fitta rete di **cisterne** e **tubuli** tra loro interconnessi che parte ed è collegato alla membrana nucleare.

Grazie alla presenza sulle sue membrane di proteine enzimatiche il Reticolo è sede di una intensa attività metabolica. La struttura fittamente ripiegata del Reticolo consente alla cellula di avere a disposizione una elevata superficie di lavoro e di tenere separati i diversi processi metabolici. Si distingue un Reticolo endoplasmatico liscio (REL), privo di ribosomi ancorati alle sue membrane ed un Reticolo endoplasmatico rugoso o ruvido (RER) caratterizzato da membrane cosparse di ribosomi sulla faccia citosolica.



il **Reticolo endoplasmatico rugoso** è costituito da un sistema di sacculi appiattiti impilati, detti cisterne, tra loro connesse. I ribosomi adesi al RER sono responsabili della **sintesi delle proteine** destinate a far parte delle membrane o ad essere secrete. Inoltre le proteine prodotte

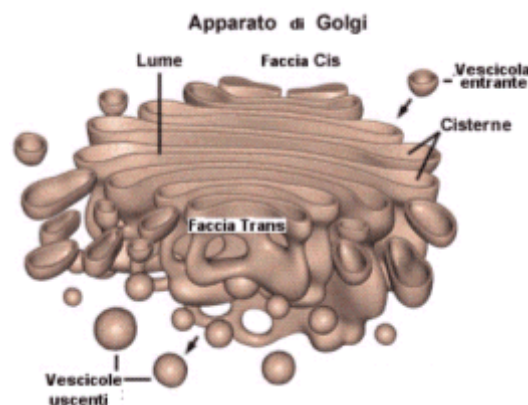
vengono ulteriormente rielaborate, con formazione di strutture quaternarie multimeriche o glicosilate (aggiunta di oligosaccaridi) con formazione di glicoproteine. Alla fine di tali processi le molecole prodotte vengono espulse del RER attraverso **vescicole** raggiungendo i siti di competenza intracellulare (tipicamente l'apparato di Golgi) o extracellulare. Il RER è particolarmente abbondante nelle cellule che presentano attività secrete (pancreas).

Il **Reticolo endoplasmatico liscio** si struttura in forma di tubuli e canali ricurvi. ha come compito quello di detossificare sostanze altrimenti dannose per l'organismo, come ad esempio l'etanolo contenuto nelle bevande alcoliche. Per questo motivo è molto diffuso nelle cellule epatiche. Il REL inoltre è sede del metabolismo di fosfolipidi, acidi grassi, steroidi ed è un sito di deposito degli ioni Ca^{2+} . Il REL è infine in grado di degradare gli organuli cellulari per rinnovarli avvolgendoli nelle sue membrane e generando una **vescicola di autofagocitosi** (o autofagosoma) il cui contenuto verrà successivamente digerito.

4.4 Apparato di Golgi

L'**Apparato di Golgi** (o **dittiosoma**) si trova tra il reticolo endoplasmatico e la membrana cellulare (da 10 a 20 dittiosomi per cellula). Esso è costituito da una pila di cisterne schiacciate (da 4 a 8 cisterne per dittiosoma), curve a scodella, con i bordi leggermente rigonfi. Ciascuna cisterna è indipendente dalle altre ed è costituita da una struttura chiusa delimitata da una singola membrana ininterrotta.

L'apparato di Golgi è polarizzato. Il lato rivolto verso il reticolo è detto **faccia cis** (o CGN = Cis Golgi Network), mentre il lato rivolto verso la membrana è detto **faccia trans** (o TGN = Trans Golgi Network).



Le proteine che sono state sintetizzate e modificate nel Reticolo endoplasmatico, e da questo rilasciate in vescicole, entrano nel Golgi fondendosi con la faccia Cis. Nel Golgi subiscono ulteriori modifiche mentre sono trasportate verso la faccia trans. Le modalità di migrazione delle sostanze dalla faccia cis verso la faccia trans non sono ancora completamente chiarite.

Secondo l'ipotesi delle "*cisterne stazionarie*", ogni cisterna possiede il suo corredo enzimatico e dopo aver modificato le sostanze in entrata le cedono, generando vescicole che si fondono con la cisterna successiva.

Secondo l'ipotesi della "*maturazione delle cisterne*" ogni cisterna modifica gradualmente il suo corredo enzimatico trasformandosi da cisterna cis in cisterna trans ed andando a sostituire la cisterna successiva.

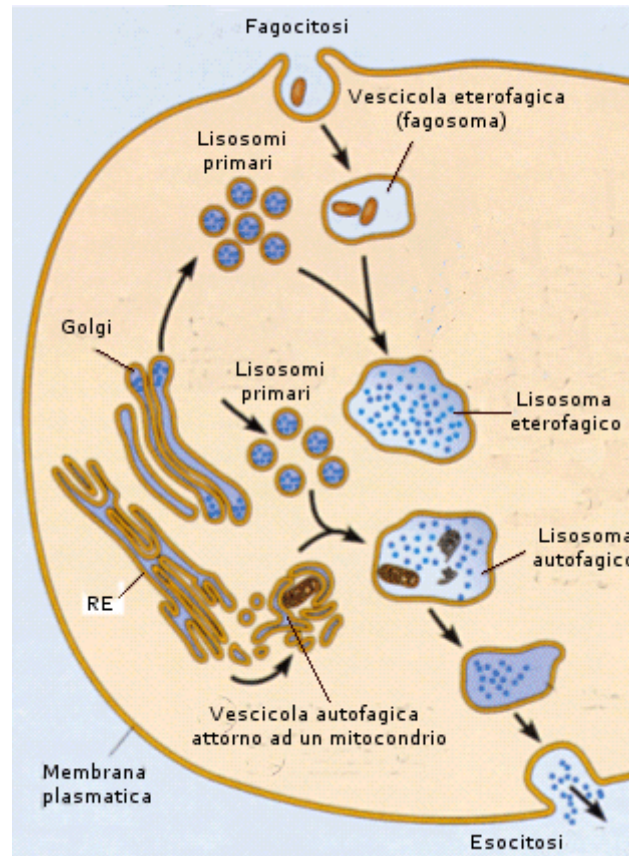
La cisterna trans, completata la trasformazione delle sostanze, le rilascia attraverso vescicole che si formano dalla sua membrana per gemmazione. Le vescicole generate dal Golgi possono essere utilizzate all'interno della cellula, in genere per processi digestivi con formazione di lisosomi o possono essere secrete esternamente (**vescicole di esocitosi**).

4.5 Lisosomi

Il **lisosoma** è una vescicola contenente enzimi idrolitici che si attivano a pH 5. È formato dalla fusione di vescicole idrolasiche del Golgi con vescicole di endocitosi (endosomi). Nelle vescicole idrolasiche del Golgi (o **lisosomi primari**) sono già presenti gli enzimi litici, ma il pH non è sufficientemente acido perché questi si attivino. Quando si fondono con gli endosomi, i quali sono dotati di pompe protoniche sulla propria membrana in grado di abbassare il pH, gli enzimi vengono attivati e si forma il vero e proprio lisosoma. Esso è ricco di enzimi digestivi in grado

di degradare molecole e strutture presenti all'interno della cellula nei loro costituenti elementari per poi venire riutilizzati in altro modo o essere espulsi.

Il lisosoma può degradare macromolecole come proteine, lipidi e carboidrati o anche molecole estranee ingerite dalla cellula. Attraverso questo stesso processo i globuli bianchi sono in grado di digerire i microrganismi patogeni o cellule morte precedentemente fagocitate. La membrana del lisosoma contiene proteine di trasporto per esportare nel citosol i prodotti della digestione e grandi quantità di glucidi legati a lipidi o a proteine della faccia non citosolica come protezione contro i propri enzimi.



4.6 Perossisomi

I **perossisomi** sono organuli vescicolari di circa 0,5-1 µm di diametro, delimitati da una singola membrana, presenti in tutte le cellule eucarioti, ma particolarmente abbondanti nelle cellule renali ed epatiche. Svolgono diverse funzioni metaboliche, la più rappresentativa delle quali è senz'altro l'*attività ossidativa* (respiratoria) a carico di substrati di tipo diverso (soprattutto acidi grassi, ma anche sostanze nocive come l'etanolo con conseguente azione *detossificante*), che avviene in presenza di una famiglia di enzimi noti come **ossidasi**. L'attività delle ossidasi avviene con consumo di ossigeno molecolare (O₂) e formazione di perossido di idrogeno (o acqua ossigenata H₂O₂). Il perossido di idrogeno è una molecola altamente reattiva che può facilmente produrre radicali liberi tossici e che i perossisomi rimuovono attivamente usando l'enzima **catalasi** attraverso la seguente reazione



In generale i perossisomi sono in grado di preservare le strutture cellulari dall'azione nociva del perossido di idrogeno (l'acqua ossigenata può essere utilizzata come disinfettante contro i batteri essendo questi privi di perossisomi).

L'appartenenza dei perossisomi al sistema interno di membrane è in realtà ancora oggetto di discussione. I nuovi perossisomi non si formano infatti per scissione dalle membrane del Reticolo o del Golgi, ma si ingrandiscono e si scindono in modo analogo a quanto fanno i mitocondri ed i cloroplasti. Per questo motivo è stata proposta anche per essi (come per i mitocondri ed i cloroplasti) una origine endosimbiontica. Dell'ipotesi endosimbiontica diremo più dettagliatamente quando descriveremo il mitocondrio. Tuttavia, in sintesi, essa ipotizza che alcuni organuli cellulari possano essere antichi microrganismi fagocitati dalla cellula eucariote primordiale in fase di evoluzione che poi stabilì con essi un rapporto di simbiosi. Recentemente

è stato tuttavia dimostrato che cellule private dei perossisomi possono generarne di nuovi a partire dal Reticolo. Questa ed altre osservazioni portano oggi a considerare meno probabile l'origine endosimbiontica dei perossisomi a favore di una origine dal sistema interno di membrane.

4.7 Sistema citoscheletrico

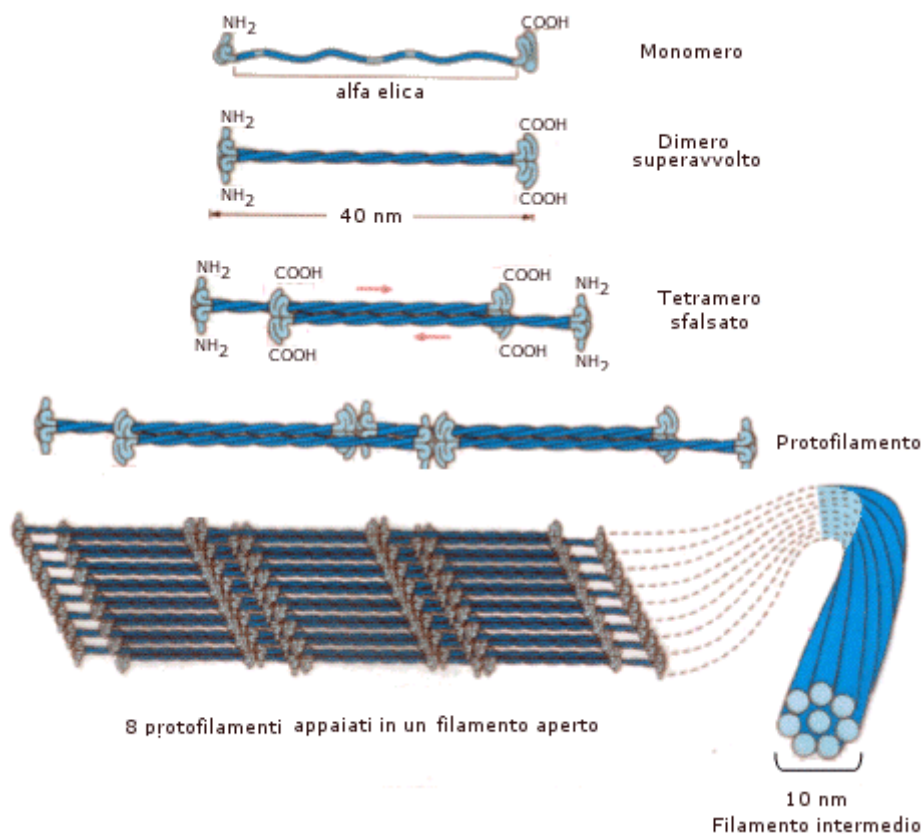
Il sistema citoscheletrico è costituito dal *citoscheletro* e da strutture di derivazione citoscheletrica quali *ciglia*, *flagelli*, *fuso mitotico* e dai relativi centri di organizzazione di tali strutture quali *centrioli* e *corpi basali*.

4.7.1 Il citoscheletro

Il **citoscheletro** è un sistema di filamenti proteici presente nel citosol di tutte le cellule animali e vegetali. È costituito da tre tipi principali di filamenti proteici: microtubuli, microfilamenti e filamenti intermedi, connessi sia tra di loro che con altre strutture cellulari grazie a numerose proteine accessorie. Della struttura quaternaria dei microtubuli (tubulina) e dei microfilamenti (actina) abbiamo già detto (vedi capitolo sulle proteine)

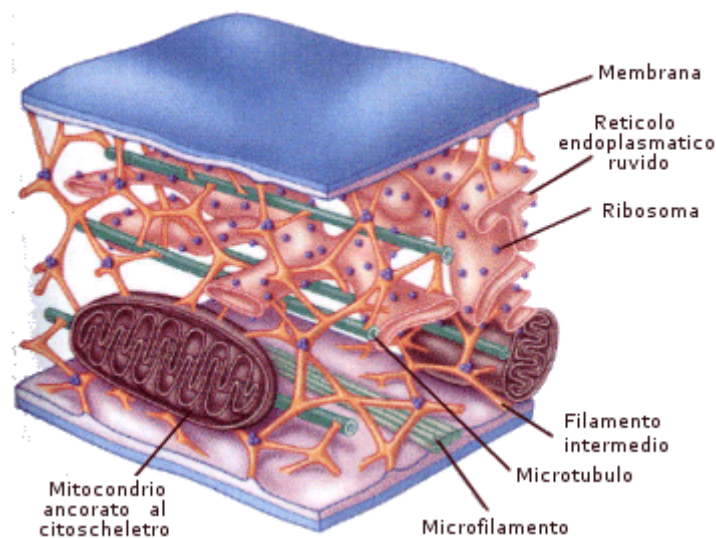
I filamenti intermedi presentano un diametro di circa 10 nm, intermedio appunto tra quello dei microfilamenti (circa 5 nm) e dei microtubuli (circa 25 nm). A seconda del tipo di cellule in cui si trovano possono essere costituiti da proteine di tipo diverso: *citocheratina* nelle cellule epiteliali, *desmina* nelle cellule muscolari, *neurofilamenti* negli assoni delle cellule nervose, *vimentina* nei fibroblasti del connettivo.

L'elemento di base è un dimer formato da due catene ad alfa elica superavvolte (coiled-coil). I dimeri si appaiano in modo sfalsato ed antiparallelo (estremità ammino-terminale contro estremità carbossi-terminale) a formare tetrametri. I tetrametri si succedono a formare un protofilamento. 2 protofilamenti appaiati formano una protofibrilla. 8 protofilamenti (o 4 protofibrille) si avvolgono a spirale a formare un filamento intermedio



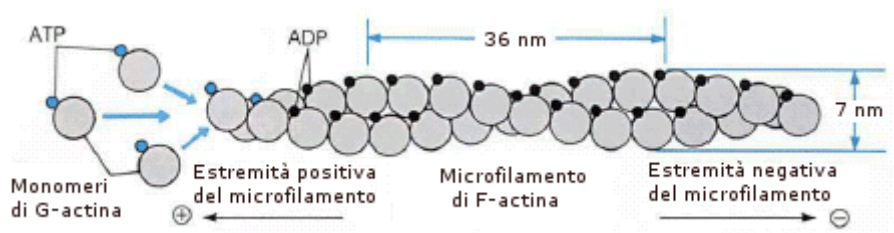
Nelle cellule animali, che mancano di una parete cellulare rigida, il citoscheletro ha un'importanza particolare, in quanto contribuisce a mantenere la struttura e la forma della

cellula. Il citoscheletro fornisce infatti un'impalcatura per l'organizzazione interna della cellula e un punto di ancoraggio per organuli ed enzimi.

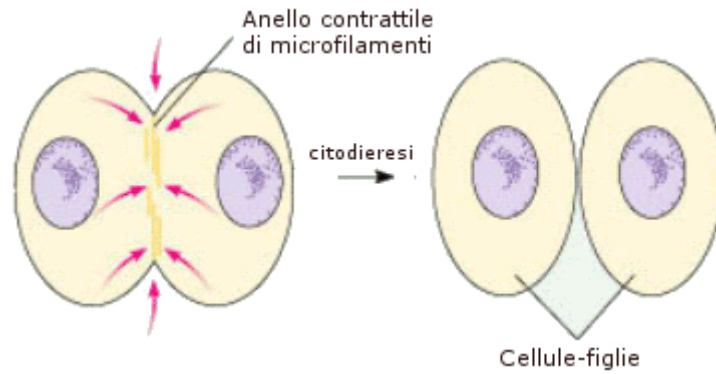


Il citoscheletro è una struttura dinamica, che viene continuamente scomposta e riassemblata. In questo modo è in grado di supportare i movimenti sia dell'intera cellula (pseudopodi, ciglia e flagelli) che degli organuli al suo interno.

Durante la formazione degli pseudopodi, ad esempio, la cellula costruisce dei microfilamenti nella direzione di avanzamento dell'estroflessione, per dirigerne e sostenerne la crescita. I microfilamenti di actina sono polarizzati (estremità + e -) e si riconoscono non solo da un punto di vista biochimico, ma anche morfologico, perché l'estremità + è appuntita, quella - è sfrangiata. Entrambe le estremità sono siti di crescita con velocità diverse: maggiore nella estremità + e inferiore nella estremità -. La porzione + del filamento di actina rappresenta la zona di attiva crescita e per questo necessita di energia sotto forma di ATP. Se nell'estremità +, i monomeri si legano velocemente, nell'estremità - vengono sottratti monomeri di G-actina che, caricati con ATP si spostano all'estremità positiva per essere assemblati: il risultato è che il filamento, mentre cresce, si sposta. Questo processo viene usato per la formazione di pseudopodi. Quindi, l'avanzamento di un filamento può essere fatto non solo con i monomeri ex-novo, ma anche con unità che derivano dal decremento dell'estremità negativa.

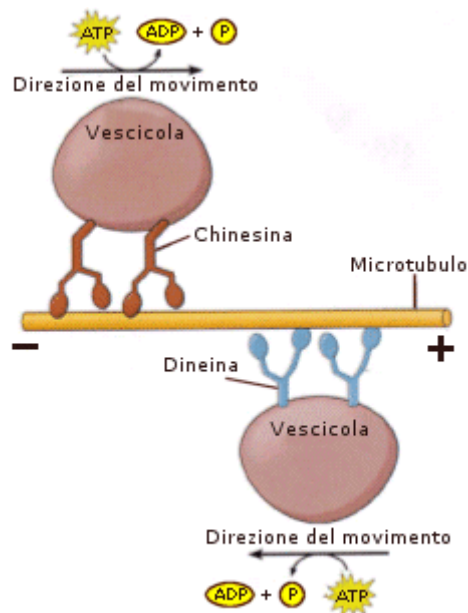


L'actina interviene anche durante la fase finale della divisione cellulare (citodieresi). La cellula eucariote animale si scinde nelle due cellule-figlie grazie ad un *anello contrattile* di actina (e di miosina, l'actina manifesta proprietà contrattili in presenza di miosina), posto appena sotto la membrana che strozza la cellula-madre nella regione equatoriale.



I microtubuli, come i microfilamenti, sono una componente del sistema citoscheletrico fondamentale per i movimenti cellulari. Essi costituiscono infatti una rete interna di binari sui quali possono spostarsi gli organuli e le vescicole cellulari grazie alla presenza di molecole di **chinesina** e **dineina**, proteine che fungono da "carrelli trasportatori", trasformando l'energia derivante dall'idrolisi di ATP in energia motrice. Inoltre, sempre grazie alla dineina, microtubuli, disposti parallelamente, possono scorrere uno rispetto all'altro consentendo il movimento di ciglia e flagelli. Dineina e chinesina sono una classe di proteine associate ai microtubuli o **MAP** (Microtubule associated proteins). Dineina e chinesina sono **MAP motorie**, motori proteici, così chiamate perché usano ATP per guidare il trasporto di vescicole ed organelli o per creare forze di scorrimento tra i microtubuli.

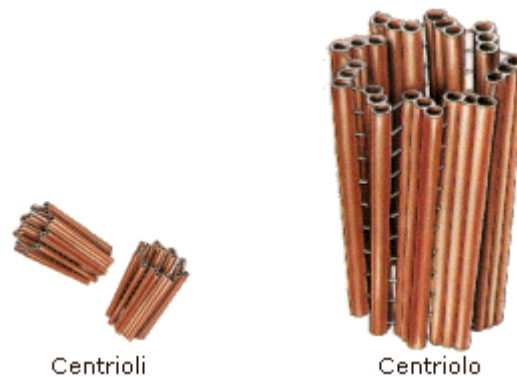
Anche i microtubuli, come i microfilamenti, sono polari, in quanto presentano un'estremità positiva (+), dove la crescita avviene velocemente ed una estremità negativa (-) che influisce poco sull'accrescimento. Le chinesine si muovono verso l'estremità (+) del microtubulo, mentre le dineine verso l'estremità (-).



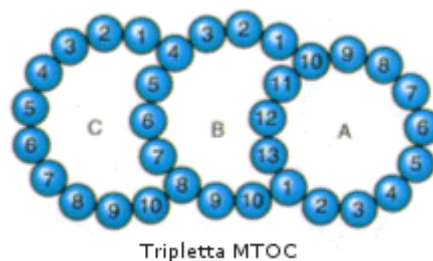
4.7.2 Centro organizzatore dei microtubuli (MTOC)

Nella cellula eucariote animale i microtubuli si formano a partire da un **centro organizzatore dei microtubuli** o **COMT** (o MTOC, Microtubule-organizing center) che possiede un punto di innesco per la crescita dei microtubuli costituito da una molecola di tubulina- γ a forma di anello. I microtubuli rivolgono sempre al MTOC la loro estremità (-) e si accrescono allontanandosi da esso con la loro estremità (+). Esistono due MTOC nella cellula animale (la cellula vegetale ne è sprovvista): i centrioli ed il corpo basale.

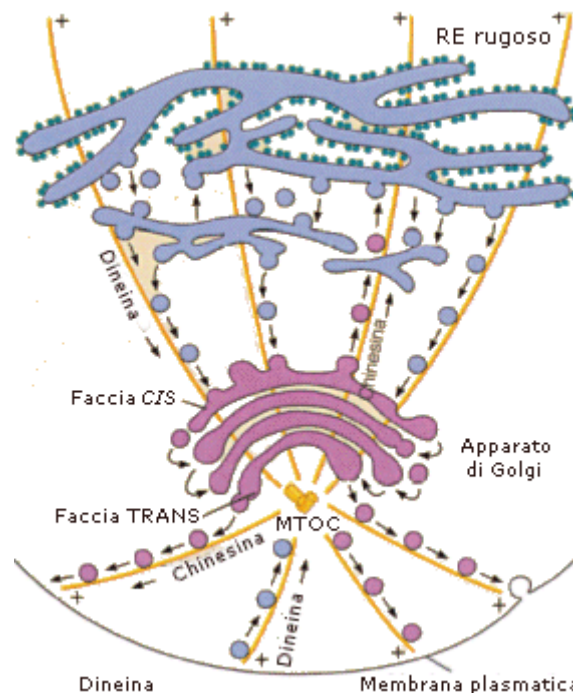
I **centrioli** sono due piccoli organuli a cilindretto disposti perpendicolarmente l'uno rispetto all'altro, situati vicino alla membrana nucleare e circondati da un materiale proteico amorfo a formare una struttura denominata **centrosoma**. I centrioli sono formati da 9 triplette di microtubuli saldate tra loro da filamenti proteici.



Questa struttura è comune anche ai corpi basali. Ogni tripletta di un MTOC presenta la seguente struttura

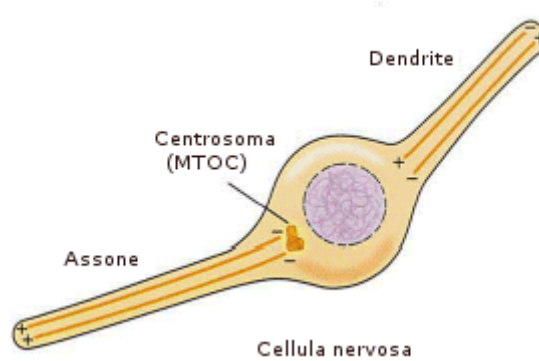


Quando la cellula non è in fase di divisione cellulare (interfase) la funzione dei centrioli è quella di organizzare la componente microtubulare del citoscheletro. In ogni cellula il movimento delle vescicole non è caotico. Esse si muovono in maniera controllata lungo *binari* di microtubuli.

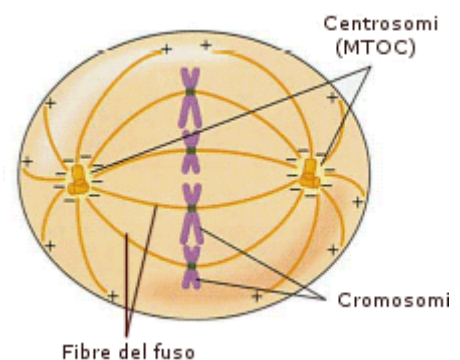


Nel neurone questi binari assumono un significato funzionale cruciale. Le vescicole di neurotrasmettitori costruite nel corpo cellulare vengono trasportate lungo l'assone al bottone

terminale (dove trasmettono segnali ad altre cellule) proprio *camminando* lungo questi microtubuli.



Quando la cellula è in fase di divisione cellulare (mitosi) la funzione dei centrioli è quella di organizzare il fuso mitotico, un fascio di microtubuli che fungono da binari per la ordinata e corretta divisione del materiale genetico (DNA sottoforma di cromosomi) alle due cellule figlie. I due centrioli si duplicano e migrano ai poli opposti della cellula tendendo fra di essi un fascio di microtubuli ai quali successivamente aderiranno i cromosomi.

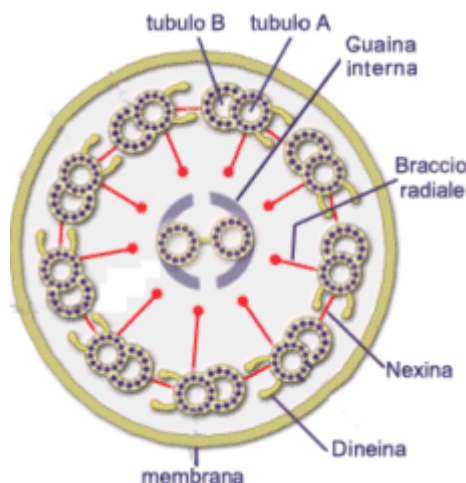


Il **corpo basale** è un MTOC strutturalmente e funzionalmente simile ad un centriolo. La sua funzione è quella di assemblare e coordinare i microtubuli che formano il citoscheletro di ciglia e flagelli.

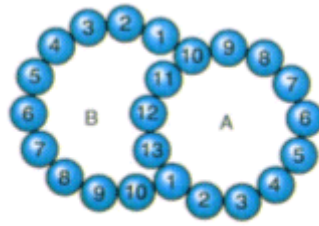
4.7.3 Ciglia e flagelli

Ciglia e flagelli sono estroflessioni filiformi e flessibili della membrana plasmatica, simili a peli, presenti sulla superficie di alcune cellule animali (ciglia e flagelli sono assenti nella cellula eucariote vegetale). Le **ciglia** sono generalmente corte e numerose sulla superficie cellulare, mentre i **flagelli** sono più lunghi e presenti nel numero di uno o due per cellula.

La struttura citoscheletrica interna (assonema) di ciglia e flagelli è identica ed è costituita da 9 coppie di microtubuli disposti ad anello attorno a due microtubuli non accoppiati al centro. Questa struttura, detta 9+2, si ritrova in quasi tutte le forme di ciglia e flagelli eucariotici, dai protozoi all'uomo e funziona da motore del movimento. Le coppie esterne di microtubuli sono collegate tra loro da due braccia di dineina e da connessioni proteiche di *nexina*.

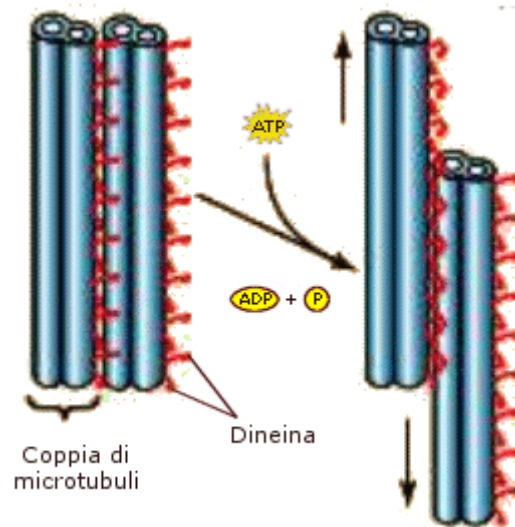


Ogni coppia periferica di microtubuli presenta la seguente struttura

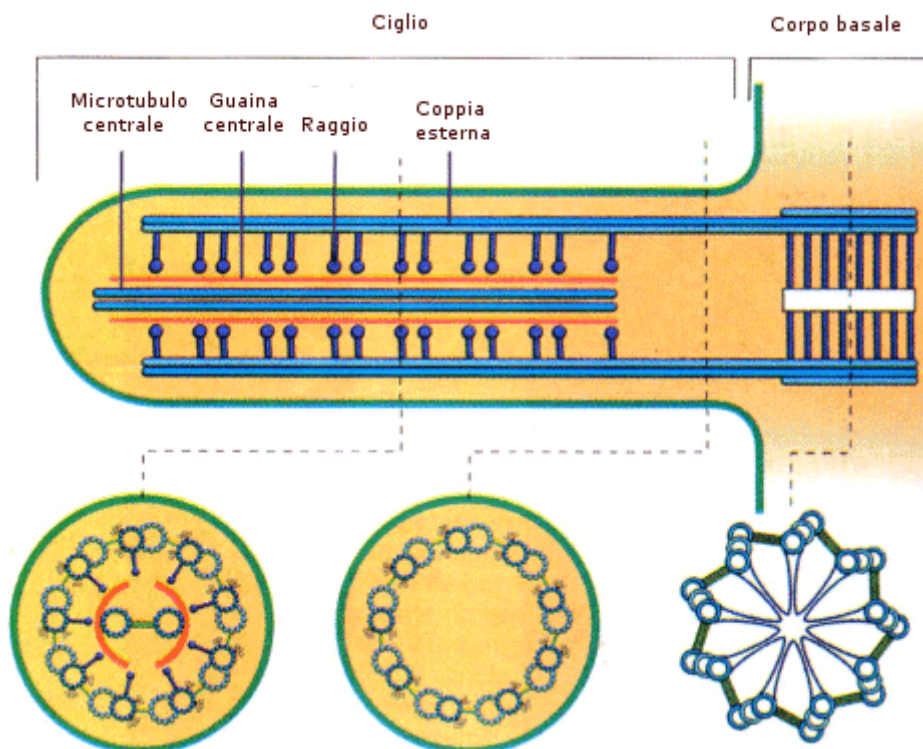


Coppia periferica assomemiale

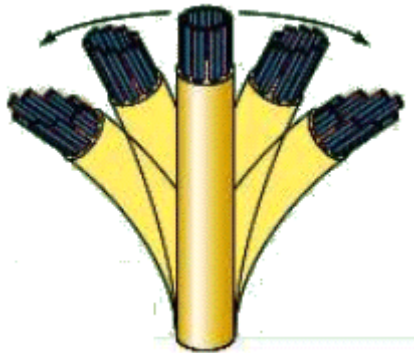
Ciglia e flagelli si flettono dando luogo a un battito regolare come conseguenza dell'energia che si libera quando la dineina idrolizza l'ATP, promuovendo lo scorrimento reciproco dei microtubuli.



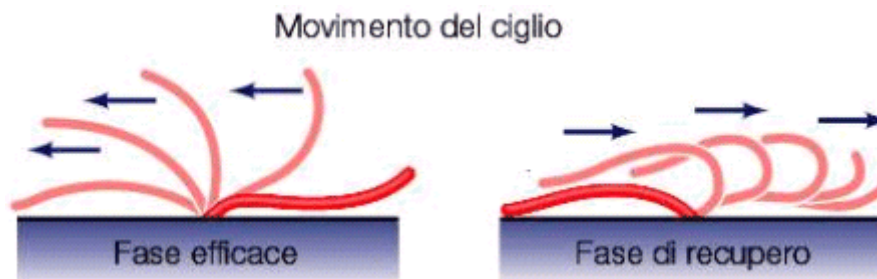
L'assonema si connette al corpo basale che penetra nel citosol come una radice e che, come abbiamo visto, presenta la medesima struttura a 9 triplete di microtubuli di un centriolo.



Poiché l'assonema è rigidamente ancorato alla base al corpo basale, lo scorrimento reciproco delle coppie di microtubuli una rispetto all'altra genera la curvatura dell'assonema e quindi il movimento.



Le ciglia si muovono con un movimento simile a quello delle braccia di un nuotatore

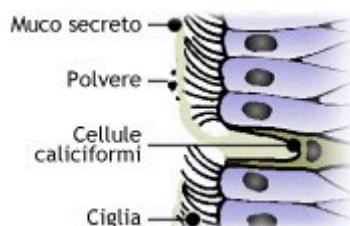


Il flagello si muove con un movimento ondulatorio simile al colpo di una frusta



Negli organismi unicellulari ciglia e flagelli hanno principalmente funzioni di locomozione, permettendo alla cellula di "nuotare" all'interno di un substrato liquido (protozoi ciliati e flagellati). In alcuni casi possono essere utilizzati con funzioni trofiche per creare correnti nel liquido intorno alla cellula in modo da "aspirare" ed indirizzare il cibo verso il luogo in cui verrà digerito, come succede per esempio nelle *vorticelle*.

Negli organismi pluricellulari sono presenti epiteli ciliati che rivestono organi cavi. Le ciglia che rivestono la trachea, ad esempio, hanno una funzione "spazzina". Intercettano le particelle di impurità sospese nell'aria che inspiriamo e, attraverso un ritmico e coordinato movimento verso l'alto (tipo quello della "ola" in uno stadio) le spingono verso l'imboccatura dell'esofago, dove vengono deglutite.



Nell'orecchio esistono epitelii ciliati con funzione di trasduzione di segnali. Nella coclea, ad esempio, le ciglia che rivestono l'epitelio interno, messe in movimento dalle vibrazioni sonore, stimolano le terminazioni nervose i cui impulsi vengono interpretati dal cervello come suoni.

4.8 Ribosomi

I ribosomi sono granuli scuri presenti nel citosol oppure sulla membrana nucleare e sul reticolo endoplasmatico rugoso. Sono composti da RNA ribosomiale e materiale proteico e sintetizzano le proteine. La loro disposizione all'interno della cellula è collegata alla funzione di quest'ultima. Se la cellula secerne le proteine prodotte possiede solo ribosomi attaccati al reticolo endoplasmatico (che occupa gran parte del citosol) e alla membrana nucleare. Se la cellula immagazzina le proteine che sintetizza possiede ribosomi liberi. Sono definiti 'liberi' i ribosomi che si trovano nel citoplasma cellulare o che fanno parte dei mitocondri o dei cloroplasti.

Un ribosoma batterico ha un coefficiente di sedimentazione di 70 S ed è costituito da una subunità grande di 50 S ed una subunità piccola di 30 S.

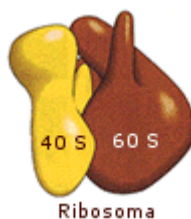
Lo **svedberg** (simbolo **S**) è un'unità di misura del tasso di sedimentazione. Uno svedberg è pari a 10^{-13} secondi.

L'unità prende il nome dal quello del fisico e chimico svedese Theodor Svedberg, vincitore del Premio Nobel per la chimica nel 1926 per il suo lavoro sulla chimica dei colloidi e l'invenzione dell'ultracentrifuga.

Nell'ultracentrifugazione, il tasso di sedimentazione di una particolare macromolecola è calcolato dividendo la velocità di sedimentazione costante (espressa in m/s) per l'accelerazione applicata (espressa in m/s^2) e moltiplicando poi per 10^{13} .

Il ribosoma della cellula eucariote, invece (fatta eccezione per quelli contenuti nei mitocondri e nei cloroplasti), è più grande ed ha un coefficiente di sedimentazione di 80 S. Anch'esso è composto da due subunità (60 S e 40 S) che nel complesso presentano più di 80 proteine.

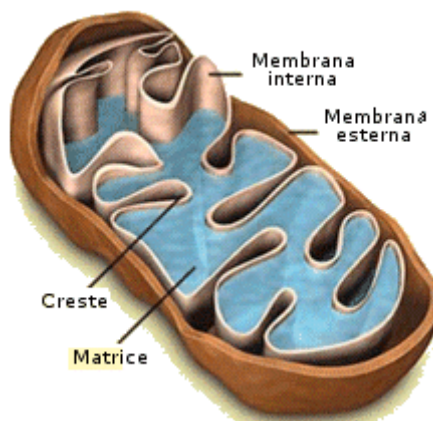
Le due subunità del ribosoma sono sintetizzate in una regione interna al nucleo detta **nucleolo**. Migrano poi nel citoplasma attraverso i pori della membrana nucleare e successivamente si uniscono tra loro ed operano insieme per tradurre un RNA messaggero in una catena polipeptidica durante la sintesi proteica.



4.9 Mitocondri

Un **mitocondrio** è un organulo cellulare di forma allungata, presente in tutti gli Eucarioti (con alcune eccezioni). I mitocondri sono gli organelli addetti alla respirazione cellulare. Nei procarioti sono sostituiti da sacchette contenenti enzimi respiratori. Sono costituiti da due membrane: la *membrana interna* e la *membrana esterna*. Lo spazio fra queste due membrane è detto *spazio intermembrana*. Lo spazio delimitato dalla membrana interna è detto *matrice mitocondriale*. La membrana interna si estende nella matrice formando delle pieghe dette *creste mitocondriali*, dove si concentrano gli enzimi respiratori. La membrana mitocondriale esterna è simile a quella del Reticolo Endoplasmatico ed è piuttosto permeabile grazie alla presenza di canali proteici (**porine**), mentre quella interna è simile alla membrana plasmatica.

dei batteri, è quasi del tutto priva di colesterolo e presenta trasportatori di membrana altamente selettivi che la rendono assai poco permeabile.



Dopo una breve fase di accrescimento, i mitocondri si dividono per scissione in mitocondri più piccoli. Una volta invecchiati sono eliminati mediante autofagia. Vengono inglobati nella membrana del REL e poi degradati ad opera degli enzimi litici lisosomiali. I mitocondri possiedono un DNA proprio sotto forma di molecole circolari, non legate a proteine, agganciate alla membrana delle creste mitocondriali.

Il mitocondrio è in grado di svolgere molteplici funzioni. La più importante tra esse consiste tuttavia nell'estrarre energia dai substrati organici (respirazione cellulare) per produrre un gradiente ionico che viene sfruttato per sintetizzare ATP. Nel mitocondrio si completano le ultime due fasi della respirazione cellulare.

4.10 Respirazione aerobica

Con il termine respirazione solitamente si intende il processo fisiologico macroscopico che consiste nella assunzione di O_2 e nel rilascio di CO_2 da parte di organismi pluricellulari. In biochimica si usa il termine respirazione in senso microscopico per riferirsi ai processi molecolari che implicano consumo di O_2 e formazione di CO_2 da parte della cellula. Si tratta di una reazione esoergonica di ossidoriduzione in cui un substrato energetico (tipicamente il glucosio $C_6H_{12}O_6$) viene ossidato ad anidride carbonica (CO_2) cedendo i suoi elettroni all'ossigeno (O_2) che si riduce ad acqua (H_2O)



La reazione globale è quindi una ossidazione completa del glucosio come in una normale combustione. Tuttavia solo una parte dell'energia liberata viene trasformata in energia chimica sotto forma di ATP. In totale si ottengono 38 ATP per ogni molecola di glucosio. Si ottengono quindi $38 \times 7.3 = 277$ Kcal/mol. L'efficienza del processo è di circa il 40%. Infatti la reazione di combustione libera 686 Kcal/mol ($277/686 \approx 0.40$)

La respirazione cellulare aerobica può essere schematicamente riassunta in tre stadi principali: *glicolisi*, *ciclo di Krebs* e *fosforilazione ossidativa*. Il primo stadio avviene nel citoplasma, gli ultimi due nei mitocondri: Il ciclo di Krebs nella matrice, la fosforilazione ossidativa a livello della membrana interna (creste).

4.10.1 Glicolisi

Il termine **glicolisi** (si pronuncia glicòlisi) deriva da due parole greche che significano "scissione dello zucchero". La glicolisi è una via metabolica pressoché universale dato che è presente non

solo negli animali e nelle piante, ma anche nella maggior parte dei microrganismi. La sua universalità e il fatto di essere anaerobica fanno pensare che sia una via metabolica che si è sviluppata agli inizi della vita sulla Terra in organismi **procarioti anaerobi** che vivevano quando l'atmosfera era ancora povera di O₂. La glicolisi è rimasta poi inalterata durante tutta la storia evolutiva grazie alla sua semplicità ed efficienza. La glicolisi è costituita da una sequenza di 10 reazioni che avvengono nel citoplasma e degradano il glucosio in due molecole di **acido piruvico** (o piruvato) (CH₃-CO-COOH) in assenza di ossigeno producendo **2 ATP** e **2 NADH**. In realtà la glicolisi carica 4 ATP attraverso un processo noto come **fosforilazione a livello del substrato**, ma la reazione di glicolisi deve essere inizialmente attivata consumando 2 ATP ed il guadagno netto finale è perciò di 2 ATP.

L'acido piruvico viene successivamente ossidato e decarbossilato (**decarbossilazione ossidativa** = ossidazione ed eliminazione del gruppo carbossile -COOH sottoforma di una molecola di CO₂) con formazione di un **gruppo acetile** (CH₃CO-). L'energia e gli elettroni che si liberano da questo processo vanno a caricare **1 NADH** (se teniamo conto che il glucosio si è spezzato in 2 piruvati, la decarbossilazione ossidativa carica 2 NADH).

Il gruppo acetile viene agganciato da un coenzima, noto come *coenzima A* (CoA), con formazione dell'**acetil-CoA**. Il compito del CoA è di trasportare il gruppo acetile all'interno del ciclo di Krebs affinché venga completato il processo ossidativo. Si tenga presente che l'acetil-CoA può essere generato anche a partire da altri substrati energetici (tipicamente lipidi).

4.10.2 Ciclo di krebs

Il ciclo di Krebs, o *ciclo degli acidi tricarbossilici (TCA cycle)* o *ciclo dell'acido citrico*, consiste in una serie di reazioni che avvengono all'interno dei mitocondri, nello spazio della matrice. Queste reazioni sono realizzate attraverso otto tappe enzimatiche e hanno lo scopo di ossidare completamente i due atomi di carbonio del gruppo acetile formando due molecole di CO₂. Durante questo processo si libera energia ed elettroni (e ioni H⁺) che vanno a caricare **3 NADH**, **1 FADH₂** e **1 ATP**. Anche in questo caso l'ATP si forma come conseguenza di un processo di fosforilazione a livello del substrato. Tenendo conto che una molecola di glucosio fornisce al ciclo di Krebs 2 gruppi acetile, il guadagno ottenuto dal ciclo di Krebs per molecola di glucosio sarà di 6 NADH, 2 FADH₂ e 2 ATP. Se sommiamo a questo le molecole che si sono caricate in precedenza (2 ATP e 2 NADH per la glicolisi, 2 NADH per la decarbossilazione ossidativa) si ottengono:

10 NADH 2 FADH₂ 4 ATP

Le ossidoreduttasi (NADH, FADH₂) che si sono finora caricate rappresentano degli accettori temporanei di elettroni. Esse devono scaricarsi e cedere elettroni ed energia ad un accettore finale e permanente. Come tutti gli enzimi ed i coenzimi, anche le ossidoreduttasi sono presenti in piccolissime quantità. Se rimanessero bloccate nella loro forma ridotta (alcuni veleni producono questo effetto) le prime due fasi della respirazione cellulare si bloccherebbero completamente, causando la morte dell'organismo.

4.10.3 Fosforilazione ossidativa

Nel terzo stadio NADH e FADH₂ si scaricano, cedendo elettroni (e ioni H⁺) all'ossigeno che, riducendosi ad acqua, costituisce l'accettore finale e permanente di elettroni. Il trasferimento di elettroni non avviene direttamente, ma attraverso tutta una serie di molecole intermedie (**citocromi**), attraverso una sorta di *catena di trasporto degli elettroni*, nota come **catena respiratoria**. In questo modo l'energia contenuta nelle ossidoreduttasi viene liberata in piccole quantità ad ogni passaggio e può essere utilizzata per caricare ATP.

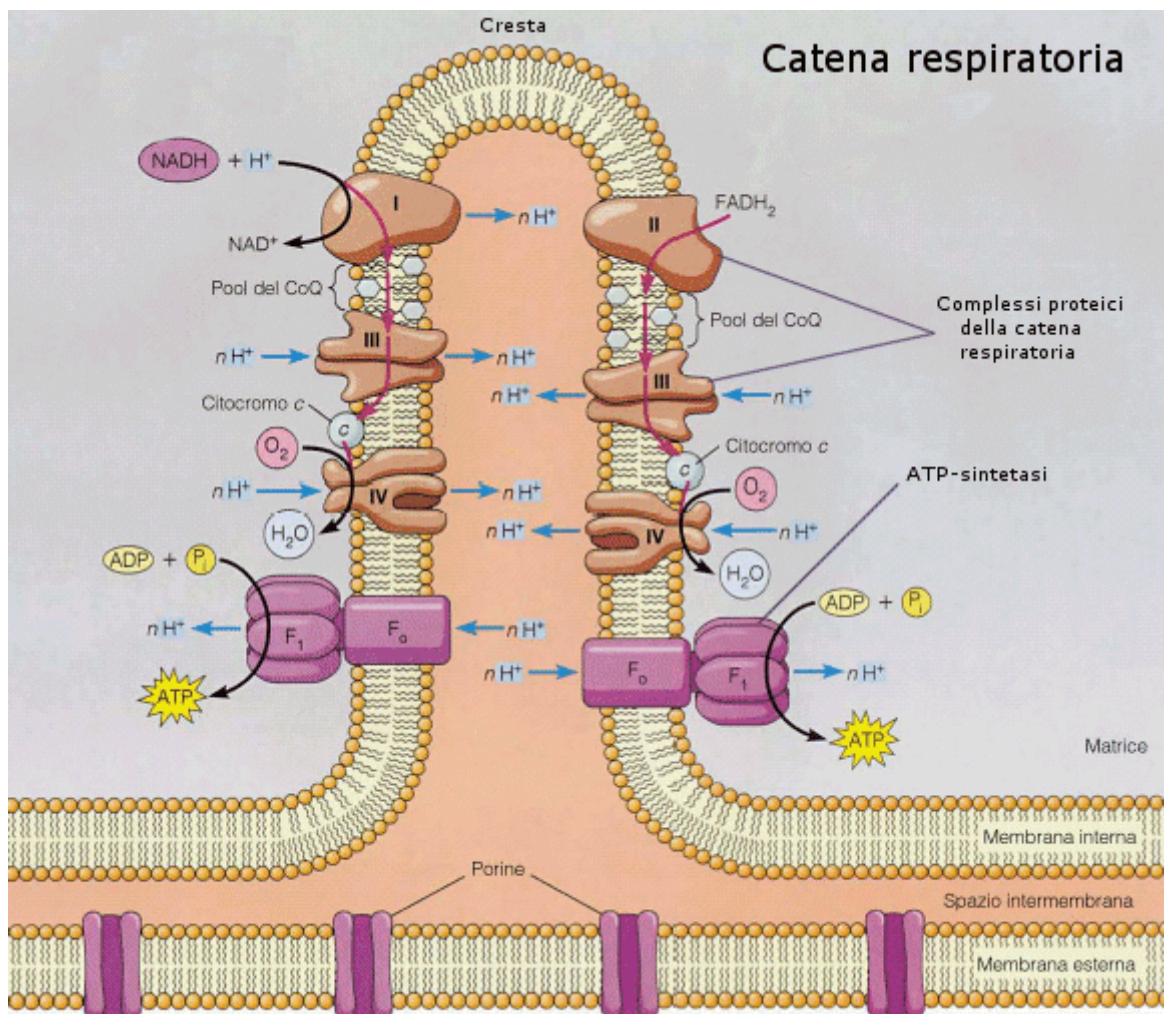
Ogni NADH che si scarica nella catena respiratoria è in grado di caricare 3 ATP

Ogni FADH_2 che si scarica nella catena respiratoria è in grado di caricare 2 ATP

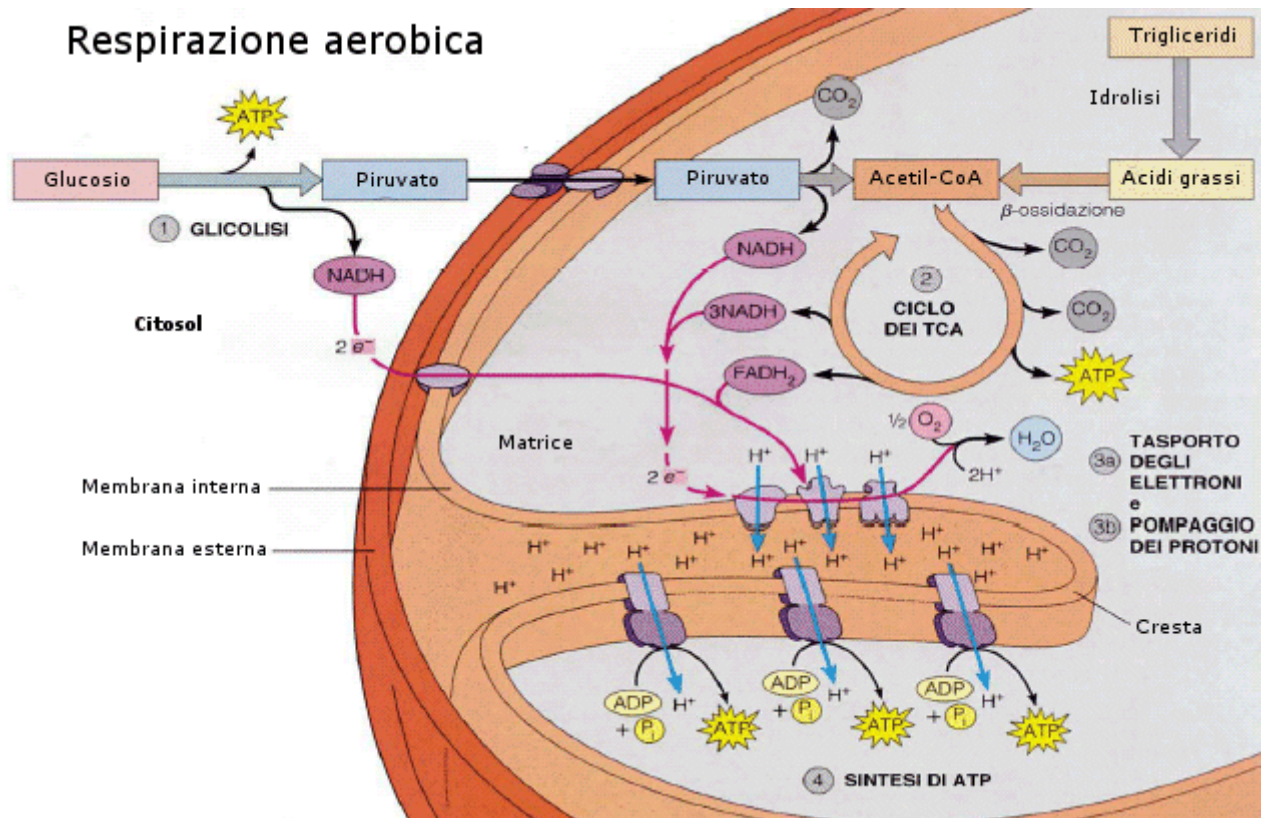
I 10 NADH caricheranno quindi 30 ATP, i 2 FADH_2 caricheranno altri 4 ATP, per un totale di 34 ATP che, sommati ai 4 ATP già ottenuti portano il guadagno totale della respirazione aerobica a 38 ATP. In alcune cellule il trasporto all'interno dei mitocondri dei 2 NADH che si erano formati durante la glicolisi richiede un consumo di 2 ATP. In questo caso la resa finale sarà di 36 ATP.

La catena respiratoria è costituita da **quattro complessi proteici** che contengono gruppi prostetici redox saldamente legati. Gli elettroni vengono trasferiti da un gruppo redox al successivo. Durante il passaggio di elettroni i complessi 1, 3 e 4 sono in grado di generare un flusso di ioni H^+ dalla matrice verso lo spazio intermembrana e per questo sono chiamati **pompe protoniche**.

In questo modo si genera ai due lati della membrana delle creste una differenza di concentrazione in ioni H^+ (gradiente elettrochimico). Sotto la spinta di questo gradiente gli ioni H^+ rientrano nella matrice utilizzando l'**ATP-sintetasi**, un enzima transmembranico in grado di convertire il flusso di ioni H^+ in energia chimica per la sintesi di ATP (**teoria chemiosmotica**).

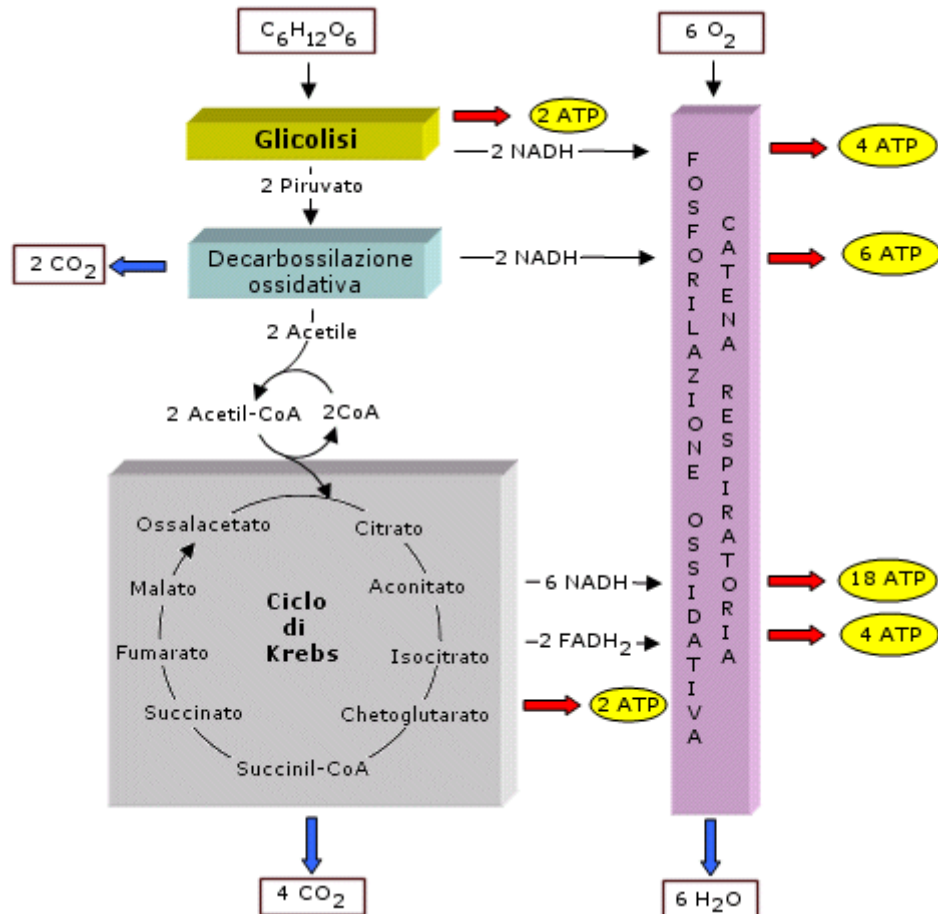


Respirazione aerobica



L'intero processo può essere così schematizzato:

Respirazione aerobica - schema



4.11 Teoria endosimbiontica

L'evoluzione delle cellule eucarioti ha comportato un notevole salto evolutivo, con il passaggio da cellule procarioti semplici a cellule ben suddivise in parti funzionali, il tutto senza passare per alcuna forma intermedia.

Il rompicapo di questa mancanza di forme è stato spiegato con la teoria dell'endosimbiosi. Sulla base delle forti somiglianze tra i batteri da una parte e i mitocondri e i cloroplasti delle cellule eucarioti dall'altra, sembra probabile che questi organelli si siano originati da procarioti liberi, riparatisi all'interno di cellule eterotrofe più grandi.

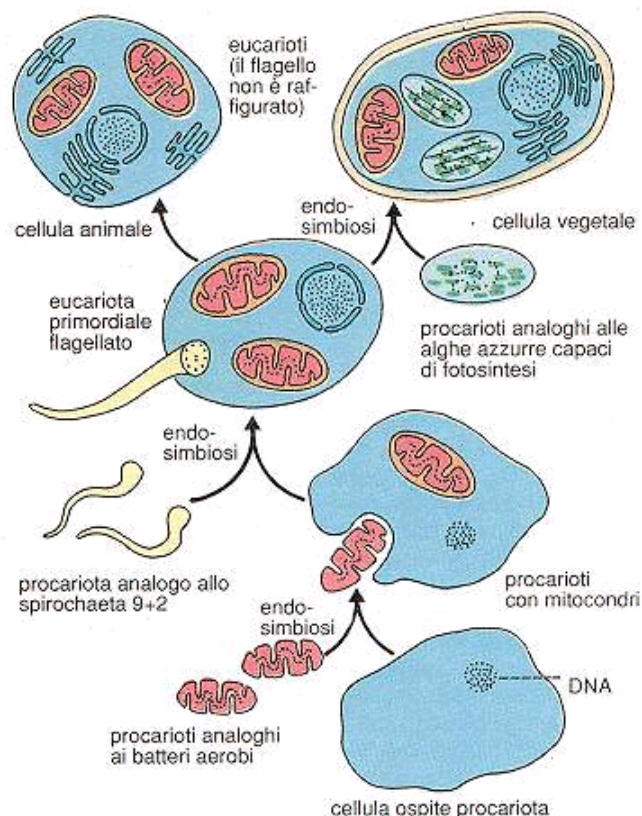
I mitocondri si possono ricondurre ad organismi aerobi analoghi ai batteri, mentre i plastidi ad organismi autotrofi simili alle alghe azzurre. Entrambi sarebbero stati assimilati, nel corso dell'evoluzione, in qualità di simbionti da procarioti più grandi. Tali simbionti, perduta la loro autonomia, sono poi divenuti elementi stabili e necessari della cellula eucariote.

Tra le prove a favore di questa teoria ci sono, tra le altre:

1. il fatto che i mitocondri ed i plastidi si formino solamente per divisione autonoma da organuli uguali.
2. Il fatto che, come i procarioti, contengano DNA anulare.
3. Il fatto che la loro membrana esterna sia di tipo eucariotico (membrana di fagocitosi), mentre quella interna di tipo procariotico (membrana originale dell'endosimbionte fagocitato).

Sempre per la stessa teoria, si fanno derivare da batteri analoghi alle spirochete anche le ciglia e i flagelli degli eucarioti con struttura 9+2 (la tipica struttura con 2 microtubuli centrali (*singoletto*) circondati radialmente da 9 coppie (*doppietti*) di microtubuli formanti un anello periferico)

Tutti gli eucarioti autotrofi contengono cloroplasti, e tutti gli eucarioti contengono mitocondri: entrambe gli organelli sembra siano stati acquisiti attraverso eventi simbiotici differenti (come si può vedere dall'immagine).



4.12 Vie metaboliche anaerobiche

Nella respirazione cellulare aerobica l'accettore finale di elettroni è l'ossigeno. Si definiscono anaerobiche le vie metaboliche di demolizione dei substrati energetici in cui l'accettore finale di elettroni non è l'ossigeno. Si tratta di processi di gran lunga meno efficienti, dal punto di vista energetico della respirazione aerobica, ma sufficienti a garantire la sopravvivenza di molti microrganismi. Ci occuperemo di due esempi importanti di respirazione anaerobica: la *fermentazione lattica* e la *fermentazione alcolica*.

Si tratta di due vie metaboliche che utilizzano la glicolisi come tappa iniziale.

4.12.1 Fermentazione lattica

Nella **fermentazione lattica** i due NADH che si formano dal processo glicolitico si scaricano sul piruvato, riducendolo ad acido lattico ($\text{CH}_3\text{-CHOH-COOH}$). Alla fine del processo il guadagno energetico si riduce quindi ai 2 ATP che si erano formati durante la glicolisi. La fermentazione lattica è alla base della trasformazione del latte in yogurt grazie all'attività di particolari batteri. La fermentazione lattica può avvenire anche nei nostri muscoli, quando il lavoro muscolare è particolarmente intenso e l'apporto di ossigeno non è sufficiente a soddisfare le richieste energetiche. In queste condizioni la glicolisi può essere accelerata (non richiede ossigeno), ma l'eccesso di piruvato che si forma e che non può essere assorbito dal ciclo di Krebs, viene convertito in acido lattico. La diminuzione di pH (lattacidosi) che si genera nelle cellule muscolari è responsabile dell'indolenzimento muscolare e può provocare crampi.

4.12.2 Fermentazione alcolica

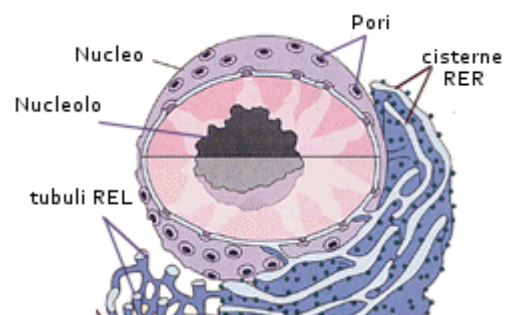
Anche nella **fermentazione alcolica** i due NADH che si formano dal processo glicolitico si scaricano sul piruvato. In questo caso il piruvato viene però anche decarbossilato, con liberazione di una molecola di anidride carbonica (CO_2) e formazione di etanolo o alcol etilico ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{OH}$). Alla fine del processo il guadagno energetico è sempre di 2 ATP come nella fermentazione lattica. La fermentazione alcolica è alla base della produzione di bevande alcoliche fermentate come il vino, la birra, il sidro il sakè etc ad opera di microrganismi unicellulari fungini, noti come **lieviti**. La liberazione di CO_2 durante questo processo permette di ottenere fermentati gasati (birra, spumante). La fermentazione alcolica viene utilizzata anche nei processi di lievitazione. Durante la lievitazione del pane, ad esempio, i carboidrati contenuti nella farina vengono trasformati in etanolo e anidride carbonica. La CO_2 che si libera nell'impasto lo gonfia rendendolo spugnoso, La successiva cottura fa evaporare sia l'etanolo che il gas.

4.13 Nucleo

La struttura di maggiori dimensioni all'interno della maggior parte delle cellule vegetali e animali è il nucleo. Il nucleo cellulare contiene il DNA ed ha quindi una funzione essenziale nella trasmissione dei caratteri ereditari (duplicazione DNA) e nel controllo del metabolismo cellulare (trascrizione dei geni e controllo della sintesi proteica). I geni contenuti nel DNA vengono, infatti, copiati all'interno del nucleo in una molecola di acido ribonucleico (trascrizione), chiamata RNA messaggero (mRNA), che passa nel citoplasma e, interagendo con i ribosomi, dirige la formazione di molecole proteiche a partire da singoli amminoacidi veicolati da molecole di RNA di trasporto.

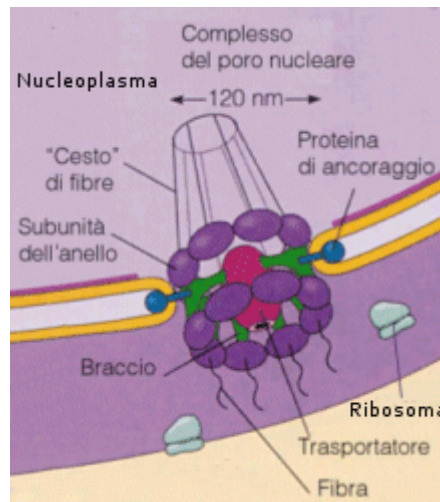
La forma del nucleo cambia notevolmente, generalmente seguendo la geometria della cellula, dunque cellule cilindriche avranno nuclei oblungi, mentre cellule cubiche avranno nuclei sferici. L'involucro nucleare è composto da due membrane concentriche, ciascuna di spessore di 8 nm circa, che delimitano il lume della **cisterna perinucleare** di 15-40 nm.

La membrana nucleare esterna è in continuità con le membrane del reticolo endoplasmatico ruvido e,



analogamente, la sua superficie esterna è cosparsa di ribosomi. Lo spazio perinucleare è in continuità con il lume del reticolo endoplasmatico. Le membrane nucleari esterna e interna sono interrotte a livello dei **pori** dove le due membrane si fondono.

I pori nucleari sono circondati da una struttura ad anello, detta **complesso del poro nucleare**, formata da otto granuli di origine proteica. Attraverso i pori nucleari avviene il trasporto selettivo di grosse molecole o particelle. Per esempio, tutte le molecole di RNA e i ribosomi della cellula sono sintetizzati nel nucleo e quindi trasferiti nel citosol, mentre tutte le proteine che svolgono le loro funzioni all'interno del nucleo sono sintetizzate nel citosol (unica sede della sintesi proteica) e devono venire introdotte nel nucleo.



All'interno del nucleo si trova il **carioplasma** (o nucleoplasma), in cui si distingue una parte fluida, detta **cariolinfa** (o succo nucleare) ed un materiale basofilo in essa disperso che, proprio per la forte affinità con i coloranti (basici) è stato chiamato **cromatina**. Nel carioplasma sono inoltre presenti corpi sferoidali fortemente basofili (solitamente più scuri del resto del nucleo) a causa dell'abbondanza di RNA, ma affini anche a molti coloranti acidi (al contrario del resto del nucleo) a causa della presenza di proteine basiche, detti **nucleoli**. La grandezza di un nucleolo va da 1 a 3 μm . Il numero di nucleoli osservabili in un nucleo è compreso tra uno e sei.

Il nucleolo è una regione deputata alla trascrizione dell'RNA ribosomiale e al successivo assemblaggio delle subunità ribosomiali. Queste, una volta sintetizzate, migrano nel citoplasma e costituiscono la sede della sintesi proteica

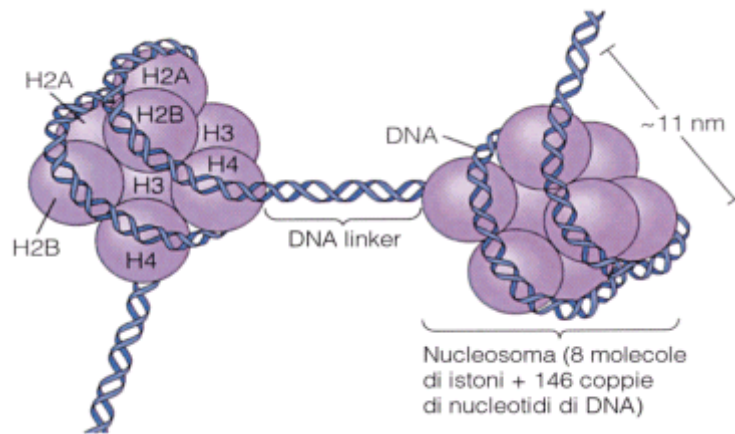
4.13.1 Cromatina e cromosomi

La cromatina è costituita da DNA e proteine nucleari classificate come *istoniche* (**istoni**) e *non-istoniche* (**non-istoni**).

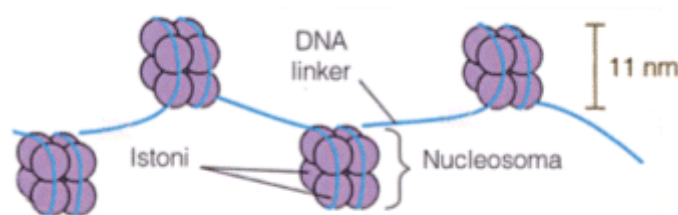
La cromatina può manifestarsi in una forma più o meno condensata, come conseguenza del diverso grado di compattazione del DNA attorno agli istoni.

Gli istoni sono proteine relativamente piccole, a forte carica positiva (per la presenza di lisina e arginina). La funzione delle proteine istoniche è quella di organizzare il DNA compattandolo in modo tale da consentire alle cellule di conservarlo in un volume ristretto come quello del nucleo. La famiglia degli istoni comprende le proteine H1, H2A, H2B, H3 e H4.

Nel primo livello di compattazione il DNA si avvolge per un giro e tre quarti attorno ad un 'rocchetto' proteico, costituito da 8 istoni (ottamero) a due a due uguali (H2A, H2B, H3 e H4). Questa struttura è nota come **nucleosoma**. I nucleosomi hanno un diametro di circa 11 nm ed il DNA vi si avvolge intorno per un totale di 146 coppie di nucleotidi. Tra un nucleosoma e l'altro, è presente un filamento di DNA detto *linker*, che può variare in lunghezza tra poche basi fino a circa 150.



Questo dà alla cromatina l'aspetto di una "collana di perle", osservabile al microscopio elettronico

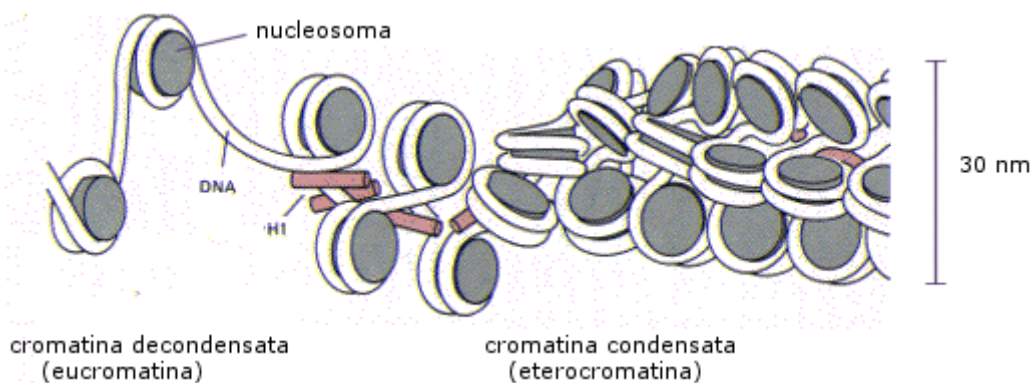
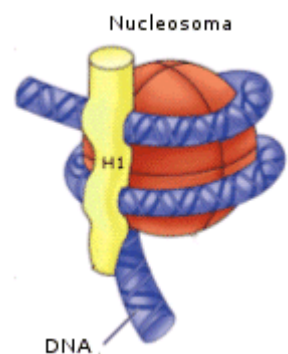


Cromatina: "collana di perle"

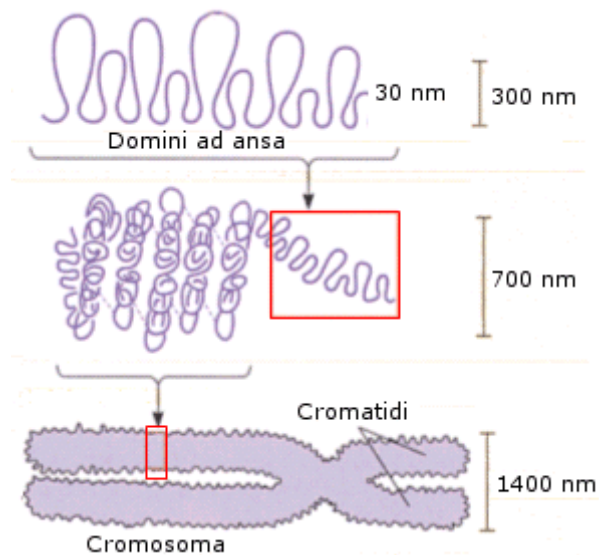
In questo stato la cromatina viene detta *decondensata* o *despiralizzata* ed è nota con il nome di **euromatina**. L'euromatina è trascrizionalmente attiva. In altre parole il DNA in questo stato è accessibile agli enzimi che trascrivono l'informazione genetica e sintetizzano RNA.

Ogni nucleosoma è associato all'istone H1, il quale sembra abbia la funzione di compattare ulteriormente i nucleosomi.

Nel secondo livello di condensazione i nucleosomi, compattati dall'istone H1, formano una fibra da 30 nm di diametro. I livelli di condensazione superiori all'euromatina sono invece trascrizionalmente inattivi (il DNA non può essere trascritto) e sono noti con il termine **eterocromatina**.

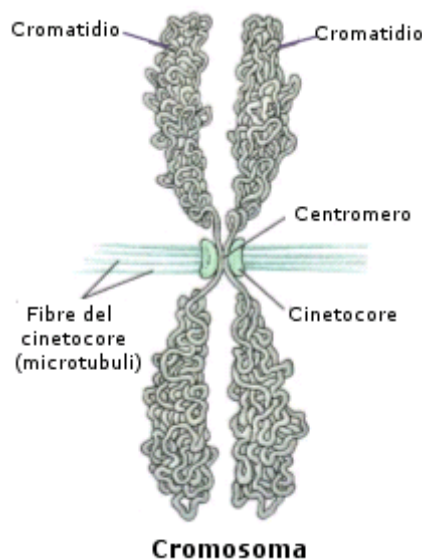


Le fibre da 30 nm possono ripiegarsi su se stesse in **anse**, le quali possono infine raggiungere il grado finale di compattazione condensandosi in **cromosomi** (corpuscoli di cromatina). Le anse sono stabilizzate da una impalcatura (*scaffold*) di proteine non-istoniche



I cromosomi compaiono nel nucleo cellulare solo al momento della divisione cellulare (mitosi e meiosi), quando la cellula-madre si divide in due cellule-figlie. Durante la divisione cellulare infatti la cellula-madre deve fornire alle cellule-figlie una copia del suo DNA e la completa condensazione della cromatina in cromosomi rende ovviamente più agevole l'ordinata ripartizione del materiale genetico.

Il cromosoma presenta una forma bastoncellare costituita da due filamenti identici di DNA, detti **cromatidi fratelli**, uniti insieme a livello di una strozzatura detta **centromero** che dà loro una forma ad X. A ciascun centromero è associata una placca proteica, detta **cinetocore**, che serve come punto di attacco per le fibre del fuso mitotico.



Le estremità di un cromosoma sono dette telomeri.

Il **telomero** è una struttura "specializzata" presente alle due estremità di ogni cromosoma. Le funzioni fondamentali del telomero sono quelle di mantenere l'integrità delle estremità cromosomiche e di opporsi ad una eccessiva proliferazione cellulare.

Il telomero impedisce infatti la deleteria fusione tra cromosomi, che avviene ad esempio facilmente per unione di due estremità cromosomiche spezzate.

Inoltre il telomero svolge, in condizioni normali, l'importante funzione di marcatempo, cioè conteggia (e impone) il numero di volte in cui una cellula può riprodursi. Da studi su colture di cellule umane è stato possibile stabilire che le replicazioni cessano dopo 50-70 divisioni cellulari.

Il telomero situato, come già detto, alle due estremità del cromosoma, strutturalmente è un

insieme di brevi sequenze identiche (sequenze ripetitive) di basi azotate ripetute migliaia di volte (DNA in tandem o DNA satellite).

Queste sequenze ripetute (dette anche terminali per la loro posizione nel cromosoma) sono prive di geni e non hanno pertanto proprietà codificanti (non producono proteine).

In tutti i mammiferi, compresa la specie umana, la "firma" molecolare del telomero, più volte reiterata in successione, consiste di sei lettere riferite alla sequenza delle basi azotate costituenti il modulo fondamentale: **TTAGGG**.

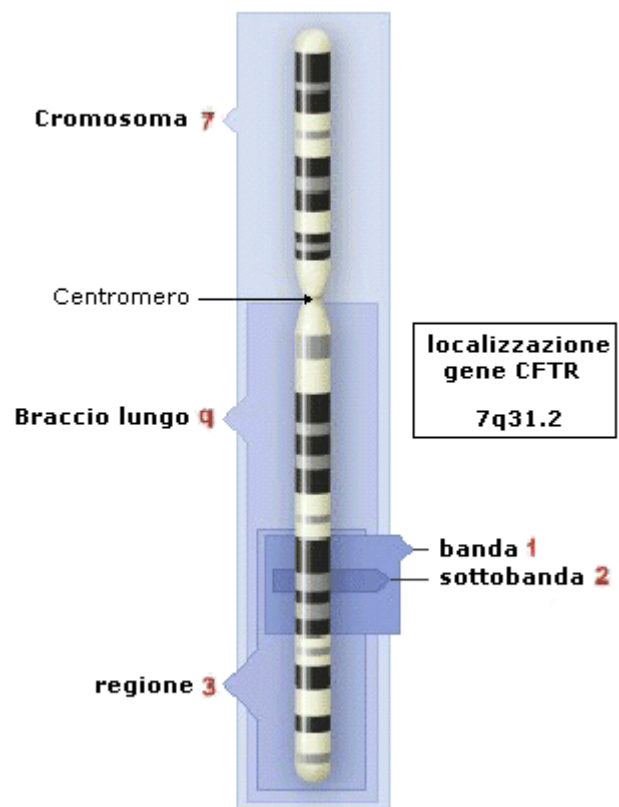
La sequenza ripetuta in tandem può essere espressa come: (TTAGGG) n , dove n è il numero delle ripetizioni (il valore medio nella specie umana è circa $n = 2000$).

Il telomero subisce un accorciamento ogni volta che i cromosomi vengono duplicati nella fase S (S: sintesi) della divisione cellulare (mitosi). L'enzima telomerasi, qualora presente, provvede ad integrare la porzione delle sequenze ripetute che sono state consumate nell'evento replicativo, ripristinando le dimensioni originarie del telomero.

Tuttavia, in condizioni normali la telomerasi è presente e attiva soltanto nelle cellule germinali (spermatozoi, cellule uovo e loro cellule progenitrici) e nelle cellule staminali.

Nel corso della vita la telomerasi scompare in quasi tutte le cellule somatiche (rimane nelle staminali) e pertanto viene a determinarsi un accorciamento progressivo dei telomeri in rapporto al numero delle repliche cellulari nel frattempo intervenute (orologio mitotico). La regressione telomerica va a coincidere nell'ultima fase con il fenomeno dell'invecchiamento cellulare (senescenza replicativa). Pertanto, dopo un numero calcolabile di duplicazioni (50-70 nelle cellule umane), al di sotto di una certa soglia critica di riduzione della lunghezza telomerica, la crescita cellulare si blocca, per passare da una fase di senescenza ad una fase di crisi, nella quale la letalità cellulare prevale a seguito della fusione e della frammentazione dei cromosomi (caos genetico) e la cellula entra in **apoptosi** (morte cellulare programmata).

Dal punto di vista genetico, un cromosoma può essere definito come una sequenza lineare di geni. Al microscopio ottico, i cromosomi sono distinguibili tra loro per le dimensioni, per la "forma" e per la posizione del centromero. Ulteriori distinzioni si possono effettuare con opportuni trattamenti chimici, che evidenziano un bandeggio (alternanza di bande trasversali con diversa pigmentazione) che identificano precise regioni. I cromosomi sono numerati progressivamente in base alle loro dimensioni: il cromosoma 1 è il più grande di tutti mentre il cromosoma 22 è il più piccolo. In ogni cromosoma si distinguono un braccio corto, indicato come "p", un braccio lungo, indicato come "q". Ogni braccio è suddiviso in regioni e bande, classificate con numeri progressivi a partire dal centromero verso l'estremità del braccio corto e del braccio lungo. Ogni regione è suddivisa in bande ed in sottobande, classificate anch'esse con numerazione standardizzata a partire dal centromero. Ad esempio il gene della fibrosi cistica (CFTR - cystic fibrosis transmembrane regulator) è localizzato nella regione 3 (banda 1, sottobanda 2) del braccio lungo (q) del cromosoma 7 ed è quindi individuato come 7q31.2



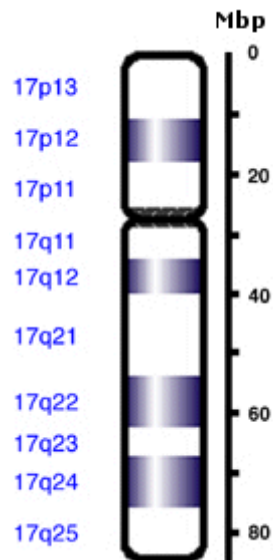
Le dimensioni dei cromosomi (e del DNA in generale) possono essere espresse in unità 'bp'. Una unità bp (base pair) si riferisce ad una singola coppia di basi complementari (A-T o C-G) che si succedono nel filamento di DNA. Si usano ovviamente i multipli di tale unità come:

1 kbp = chilobase = mille basi

1 Mbp = megabase = un milione di basi

1 Gbp = gigabase = un miliardo di basi

Le dimensioni dei cromosomi sono comprese in un intervallo di 50-280 Mbp. Poiché il genoma umano contiene circa 3200 Mpb (3,2 Gbp), la dimensione media dei 23 cromosomi è di circa 140 Mbp (3200/23).



4.13.2 il genoma umano

Il numero di geni contenuto nel DNA umano è ancora oggetto di discussione. Attualmente si ritiene che esso sia intorno a 20.000-30.000 geni. Un gene ha una dimensione media di 27 kbp (27.000 basi), di cui solo 1-1,5 kbp (1000 - 1500 basi) sono codificanti per la proteina (esoni), mentre la frazione residua (introni) non viene tradotta ed ha probabilmente funzioni di regolazione dell'espressione genica.

Questo significa che solo il 25% del genoma è costituito da **DNA genico**, per circa 800 Mbp (30.000 geni x 27 kbp/gene) e solo l'1,5% del genoma va a formare il **DNA codificante** per circa 45 Mbp (30.000 geni x 1,5 kbp/gene). Il rimanente 75% del genoma costituisce il **DNA extragenico** (o intergenico)

Dunque circa il 98.5% del genoma umano è composto di sequenze non codificanti. Si definisce **DNA non codificante** ogni sequenza di DNA in un genoma non soggetta a trascrizione in RNA o rimossa dall'RNA messaggero prima della traduzione (introni) e che viene perciò considerata, allo stato attuale delle conoscenze apparentemente priva di funzione, nonostante diverse ipotesi in merito siano state formulate. Tali regioni di DNA erano indicate con i termini di *junk DNA* o *DNA spazzatura*.

Un tipo particolare di DNA non codificante è costituito dalle cosiddette **sequenze ripetitive** che costituiscono una frazione elevata del genoma (35-50%). Il **DNA ripetitivo** è costituito da sequenze di DNA che si ripetono uguali molte volte nel genoma. Il DNA ripetitivo viene classificato in DNA in tandem e DNA intersperso,

Il **DNA in tandem** è noto anche come **DNA satellite**, poiché, in seguito a centrifugazione del DNA, si concentra in sottili bande satellite distinte dalla banda principale del DNA. Il DNA in tandem costituisce circa il 5% del genoma ed è formato da sequenze molto brevi di basi (10-100 bp) i cui compaiono soprattutto Adenina e Timina, che si ripetono uguali una dopo l'altra (in tandem) per tratti lunghi fino a qualche centinaio di kbp. Si trova localizzato nelle regioni centromeriche e telomeriche del cromosoma

Il **DNA intersperso** è costituito da sequenze che si ripetono in punti diversi del DNA, disperse in tutto il genoma. Il DNA intersperso è frutto dell'attività dei trasposoni. I **trasposoni** sono elementi mobili che si trovano nel genoma di tutti gli organismi. Sono in grado, con meccanismi diversi, di saltare da un punto all'altro del genoma. Esistono due tipi di trasposoni: - i **trasposoni a DNA** che, tramite l'enzima *trasposasi*, si staccano dal filamento principale sotto forma di un breve filamento anulare di DNA e si inseriscono in un altro punto del filamento principale (trasposizione conservativa)

- i **retrotrasposoni** che utilizzano un processo di trascrizione inversa (retrotrascrizione), tramite il quale un filamento di RNA sintetizza numerose segmenti identici di DNA che si inseriscono in punti diversi del filamento principale di DNA (trasposizione replicativa). Sono retrotrasposoni le sequenze ripetitive intersperse note come **SINE** (Short Interspersed Elements = **elementi interspersi corti**), lunghe 100-300 bp e **LINE** (Long Interspersed Elements = **elementi interspersi lunghi**), lunghe 6-8 Kbp. Nell'uomo predominano tra le SINE, la famiglia Alu, e tra le LINE, la famiglia L1.

Spesso le unità di misura delle dimensioni del DNA (kbp, Mbp, Gbp) vengono abbreviate in kb, Mb e Gb, generando non poca confusione con le corrispondenti unità di misura dell'informazione.

Kb è infatti il kilobyte, Mb il megabyte e Gb il gigabyte.

La confusione nasce dal fatto che le sequenze di DNA contengono dell'informazione (genetica) che può dunque essere misurata in bit, byte e suoi multipli (kb, Mb, Gb). Vediamo come.

Il bit (contrazione di binary digit = cifra binaria) è l'unità di misura dell'informazione. Il bit è uno dei due simboli del sistema numerico binario, classicamente chiamati *zero* (0) ed *uno* (1) che utilizziamo per individuare univocamente due alternative.

Per individuare in modo univoco le 4 basi (Adenina, Timina, Guanina e Citosina) sono necessari 2 bit (due cifre binarie).

Ad esempio:

Adenina = 00 Timina = 01 Guanina = 10 Citosina = 11

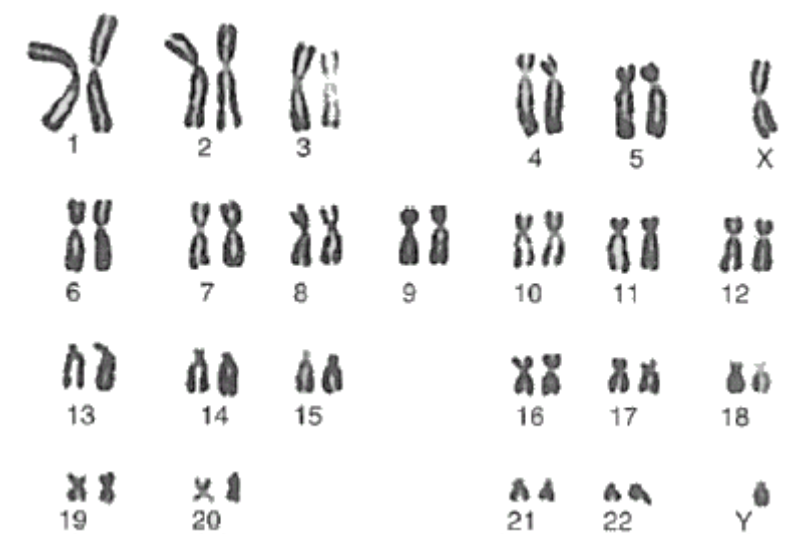
Così se volessimo registrare l'intera informazione contenuta nel genoma umano (3,2 Gbp) sarebbero necessari 6,4 miliardi di bit (6,4 Gbit = 6.400 Mbit).

Tenendo poi presente che, per definizione, 1 byte = 8 bit, il genoma umano contiene informazioni per 6.400 Mbit/8 = 800 megabyte (Mb).

In pratica, per trasformare le dimensioni del DNA, espresse in bp, in quantità di informazione in esso contenuta, espresse in byte, è sufficiente dividere per 4 (si moltiplica per 2 per ottenere i bit e si divide per 8 per ottenere i byte).

Il risultato è certamente sorprendente se si pensa che attualmente (settembre 2006) Windows XP richiede circa 1500 Mb di spazio su disco rigido per gestire un computer, quando con 'soli' 800 Mb il DNA gestisce l'intero nostro organismo.

Numero e struttura dei cromosomi costituiscono il **cariotipo**, ben evidenziabile (e fotografabile) durante la divisione cellulare.



In molte cellule i cromosomi non sono tuttavia uno diverso dall'altro, ma si presentano in coppie morfologicamente simili. I cromosomi di una medesima coppia si dicono **omologhi**.

Le cellule che hanno coppie di cromosomi omologhi sono dette **diploidi** (2n), mentre sono definite **aploidi** (n) le cellule che presentano un'unica serie di cromosomi uno diverso dall'altro.

n è il numero di cromosomi di una singola serie.

Le cellule diploidi sono tipiche degli organismi che si riproducono sessualmente e le due serie di omologhi sono una di provenienza materna e l'altra di provenienza paterna.

Ogni specie presenta un corredo cromosomico caratteristico per forma e numero. Le cellule diploidi umane presentano 23 coppie di omologhi (46 cromosomi) e quindi $n = 23$.

Nella specie umana la 23^{ma} è la coppia dei **cromosomi sessuali**, che definisce il sesso genetico dell'individuo. Nella femmina è costituita da due cromosomi omologhi, detti X. Nel maschio invece è costituita da un cromosoma X (come quelli presenti nella femmina) e da un cromosoma più piccolo detto Y.

Le proteine nucleari (istoni e non-istoni) non hanno solo funzioni strutturali (compattazione del DNA), ma svolgono un ruolo importante nella regolazione dell'espressione genica, stabilendo quali regioni del DNA debbano essere accessibili all'apparato trascrizionale (il DNA in forma condensata non può infatti essere né trascritto né duplicato). Nel nucleo avvengono in definitiva vari fenomeni di regolazione e attivazione dei geni, mediati da proteine, in modo che una proteina, codificata da un tratto del DNA (gene), venga prodotta esclusivamente nei tempi e nelle quantità richiesti dalla fisiologia della cellula.

Le proteine non istoniche sono proteine a carica negativa e sono classificate in:

- proteine che regolano la trascrizione genica;
- enzimi attivi nella trascrizione, replicazione e riparazione del DNA;
- proteine che partecipano al mantenimento della struttura della cromatina dallo stato decondensato a quello compatto.

4.14 La regolazione dell'espressione genica

Tutte le cellule di un organismo pluricellulare possiedono lo stesso genoma. Tuttavia ogni cellula si specializza nell'eseguire determinate funzioni ed utilizza solo una parte delle informazioni contenute nel suo DNA (esprime solo certe proteine). Per ogni tipo cellulare inoltre, il tipo e la quantità di proteine prodotte dipendono anche dalle necessità che la cellula presenta in un determinato istante. Le cellule devono dunque possedere dei meccanismi che permettano loro di esprimere certi geni e silenziarne altri.

Si distinguono **geni costitutivi** che sono costantemente attivi (es. geni che codificano per gli enzimi della glicolisi) e **geni regolati** la cui espressione è regolata in relazione al fabbisogno cellulare (es. sintesi adattativa di enzimi).

I meccanismi di regolazione genica più semplici e meglio compresi sono quelli utilizzati dai procarioti (batteri). I batteri utilizzano sistemi di regolazione genica noti come "operoni".

L'**operone** è una unità funzionale del DNA costituita da un gruppo di geni contigui strettamente correlati, responsabili della sintesi coordinata di una proteina e della regolazione della sintesi stessa.

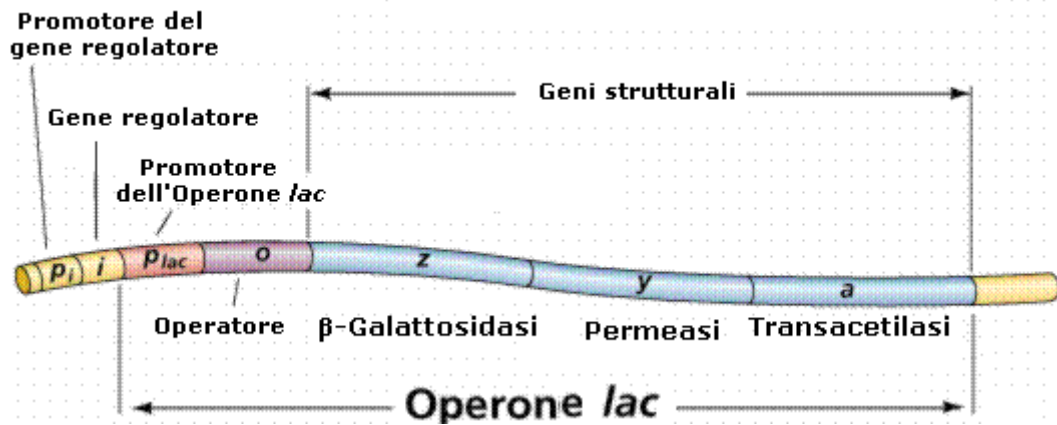
Un operone contiene:

- uno o più **geni strutturali** destinati ad essere trascritti (sintesi mRNA) e ad esprimere la proteina
- un **promotore** che precede i geni strutturali, costituito da una particolare sequenza di DNA che indica dove debba iniziare la trascrizione. Un promotore occupa una posizione adiacente al gene o al gruppo di geni di cui controlla la trascrizione e la sua funzione è quella di rappresentare una zona di riconoscimento e di attacco per una molecola di RNA polimerasi, l'enzima deputato alla sintesi di RNA messaggero (mRNA) a partire da uno stampo di DNA
- un gene **operatore** che controlla l'espressione genica dei geni strutturali.

L'azione dell'operatore è a sua volta sotto controllo di un gene **regolatore** che non fa parte dell'operone. Il gene regolatore è in grado di bloccare o sbloccare il gene operatore in funzione della presenza o meno nella cellula di un particolare metabolita.

L'**operone lattosio** o **operone lac** in *Escherichia coli* è stato il primo operone studiato.

L'operone lattosio produce gli enzimi necessari per l'utilizzazione del lattosio da parte del batterio. Gli enzimi sono codificati da tre geni strutturali adiacenti Z, Y ed A. Questi geni vengono trascritti in un solo mRNA che viene poi tradotto nelle tre proteine. In particolare il gene lacZ codifica per la β -galattosidasi, enzima in grado di idrolizzare il lattosio (un disaccaride) in glucosio e galattosio.



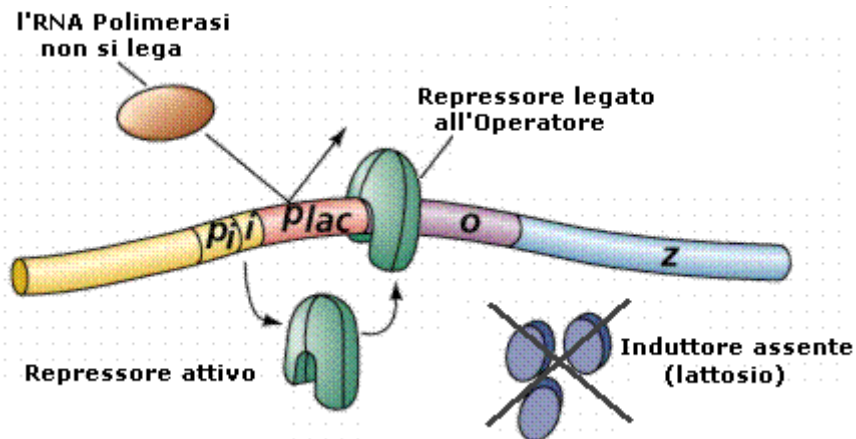
DNA

Promotore del regolatore (P_I)
 Regolatore (I)
 Promotore (P_{lac})
 Operatore (O)
lacZ
lacY
lacA

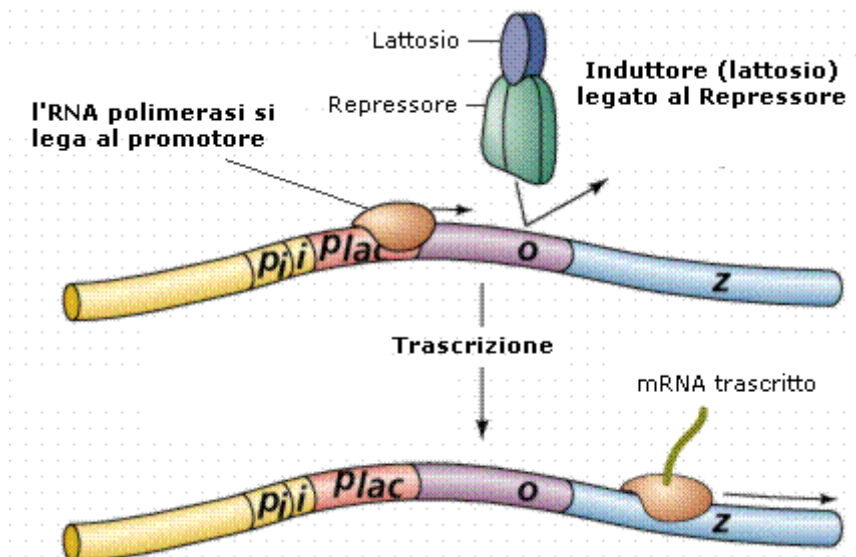
Funzione

Controllo della trascrizione del Regolatore
 Codifica il repressore
 Controllo della trascrizione dei geni a valle
 Bersaglio del repressore
 Codifica beta-galattosidasi
 Codifica lattosio-permeasi
 Codifica transacetilasi

- In assenza di lattosio il repressore, sintetizzato dal gene regolatore, si lega al gene operatore e ricopre in parte il promotore, impedendo all'RNA polimerasi di legarsi al DNA e di iniziare di conseguenza la trascrizione.



- In presenza di lattosio, il lattosio funge da **induttore**, si lega al repressore rimuovendolo dall'operatore. Quando la proteina repressore si lega al lattosio o ai suoi derivati, va incontro a cambiamenti conformazionali che ne abbassano l'affinità verso le sequenze dell'Operatore, di fatto staccandosi da esso. La trascrizione può avvenire.

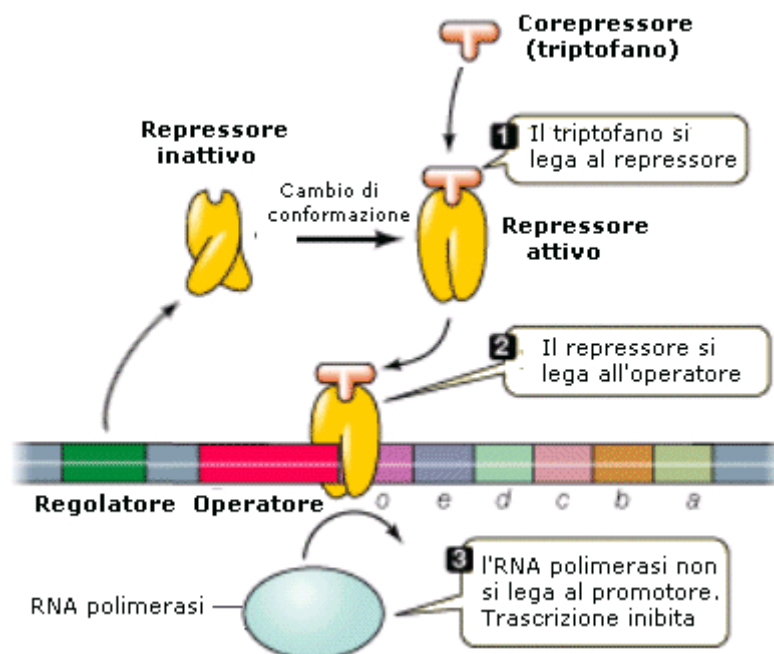


L'operone *lac* è un esempio di **operone inducibile**, tramite induzione da substrato (il lattosio).

L'**operone triptofano** o **operone trp** è invece un esempio di **operone reprimibile**, tramite repressione da prodotto finale.

In questo caso infatti, la presenza dell'aminoacido triptofano all'interno della cellula determina il blocco della sintesi degli enzimi che lavorano in modo coordinato per la biosintesi del triptofano stesso.

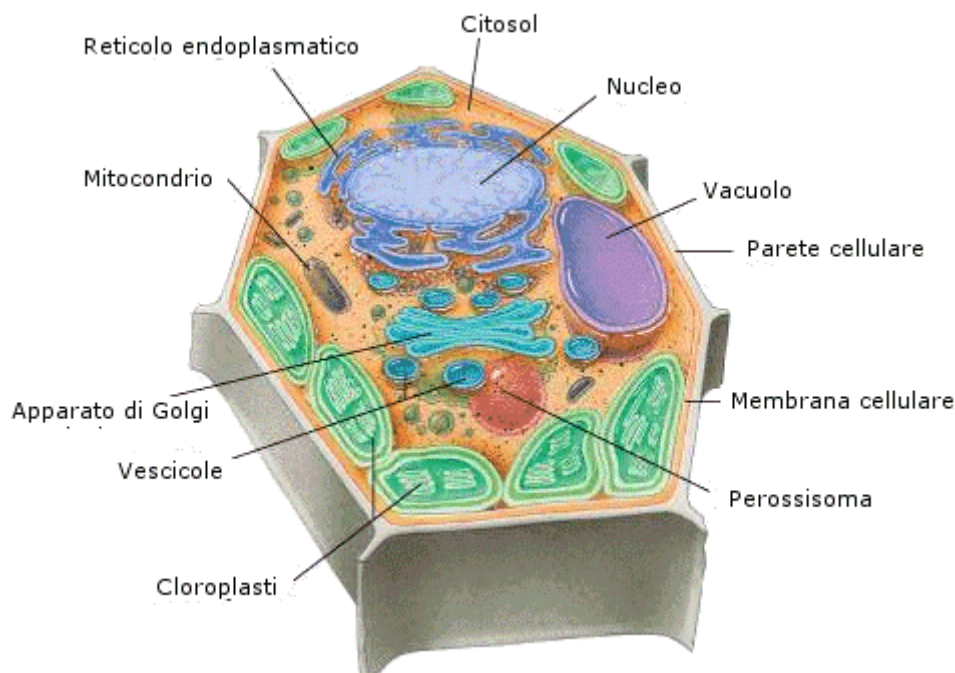
Il repressore del triptofano si lega **all'operatore** solamente nel caso in cui sia legato al triptofano. Il triptofano presente agisce da **corepressore** (repressione da prodotto finale), quindi il grado di espressione dei geni per la sintesi del triptofano è inversamente correlato alla presenza di questo aminoacido nel mezzo di coltura.



Negli eucarioti il controllo dell'espressione genica è più complesso e le nostre conoscenze a riguardo sono ancora molto incerte. Si ritiene che negli eucarioti l'espressione genica avvenga su più livelli e non solo a livello trascrizionale, come avviene nei procarioti. Si ritiene, ad esempio che le proteine nucleari (istoni e non istoni) possano giocare a questo proposito un ruolo importante.

5 Cellula eucariote vegetale

Come abbiamo già visto la cellula eucariote vegetale non presenta alcune strutture tipiche della cellula eucariote animale, come i MTOC (centrioli e corpi basali) e le ciglia ed i flagelli. La cellula vegetale possiede alcune strutture tipiche, non presenti nella cellula animale: la *parete*, il *vacuolo* ed i *plastidi*.



5.1 Parete cellulare

La parete costituisce uno strato rigido e robusto, posto all'esterno della membrana cellulare. È composta da sottili filamenti di cellulosa che, unendosi tra loro, formano filamenti più spessi. Le molecole si dispongono parallelamente una all'altra, su piani sovrapposti, in ognuno dei quali esse assumono una particolare direzione. Un altro costituente della parete è la lignina, che le conferisce rigidità; inoltre, vi sono sostanze grasse, quali la cutina (nelle pareti delle cellule dell'epidermide fogliare), la suberina (nelle pareti delle cellule del sughero) e le cere, che riducono le perdite d'acqua per disidratazione.

5.2 Vacuolo

Il vacuolo centrale è una cavità piena di un liquido detto **succo vacuolare**. Occupa gran parte del volume cellulare ed è delimitato da una membrana chiamato **tonoplasto**. Costituisce per la cellula vegetale una sorta di idroscheletro. Esso, infatti, esercita una pressione contro la superficie della cellula che è racchiusa dalla parete rigida ed in tal modo produce un'azione di sostegno per la cellula stessa (turgore cellulare). All'interno del vacuolo possono essere immagazzinate sostanze di riserva, prodotti intermedi di alcuni processi metabolici e scorie metaboliche. Può anche diventare deposito per sostanze nocive o repellenti come difesa nei confronti degli animali. Regolando il suo contenuto di acqua determina l'aspetto più o meno gonfio delle cellule vegetali. Regolando il contenuto idrico della cellula riesce a difendere il citoplasma dal congelamento durante la stagione fredda. Assorbendo acqua dal citoplasma lo rende più concentrato abbassando la temperatura di solidificazione della soluzione.

5.3 Plastidi

I plastidi sono costituiti come i mitocondri da un involucro costituito da due membrane. All'interno si trova un fluido contenente vari metaboliti ed intermedi di reazione detto **stroma**. Sulle membrane sono inseriti numerosi enzimi che partecipano a vari processi metabolici. I plastidi hanno ribosomi e DNA propri rispetto a quelli della cellula e perciò possono svolgere sintesi proteica autonoma. Come per i mitocondri, anche per i plastidi è stata avanzata un'origine endosimbiontica. Nelle cellule non ancora differenziate si trovano i **proplastidi**, piccoli e con sistema interno di membrane poco sviluppato.

Dai proplastidi si differenziano i plastidi che si dividono a seconda della loro funzione, del loro colore, dello sviluppo delle membrane interne e del contenuto dello stroma, in tre diversi tipi: *leucoplasti*, *cromoplasti* e *cloroplasti*.

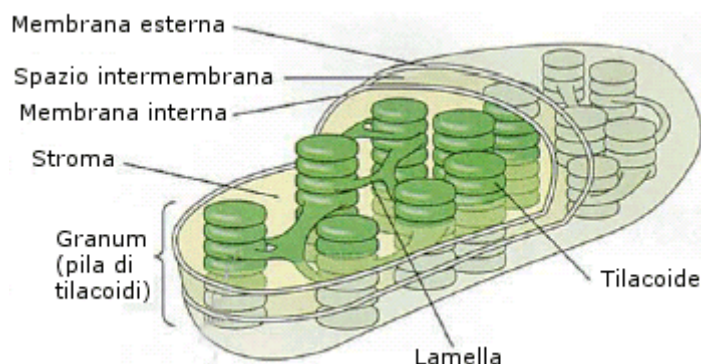
I **leucoplasti** sono plastidi incolori nei quali vengono sintetizzate e confinati l'amido (amiloplasti) o altre sostanze (oli e proteine).

I **cromoplasti** sono plastidi nei quali si accumulano pigmenti. Sono responsabili del colore dei fiori e dei frutti.

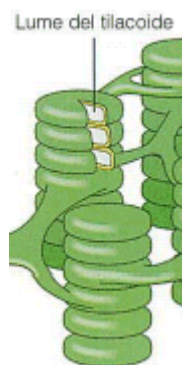
I **cloroplasti** sono plastidi di colore verde per la presenza prevalente di *clorofilla*. Rappresentano la sede della *fotosintesi clorofilliana*.

5.4 Cloroplasto e fotosintesi clorofilliana

Il cloroplasto è un organulo dalla forma ovoidale, la cui membrana interna presenta dei ripiegamenti a forma di minuscoli sacculi appiattiti detti **tilacoidi** che si sviluppano nello stroma. In alcune regioni i tilacoidi si sovrappongono andando a costituire una sorta di "pila di monete" detta **grano** (granum).



i tilacoidi presentano uno spazio interno detto **lume**.



I tilacoidi sono di colore verde perché le loro membrane ospitano i pigmenti fotosintetici ed in particolare la clorofilla.

La fotosintesi è un processo di ossidoriduzione nel corso del quale l'energia elettromagnetica luminosa (luce visibile) viene trasformata in energia chimica e l'anidride carbonica viene trasformata in glucosio. La reazione globale è esattamente opposta alla reazione di respirazione aerobica.



Il Carbonio viene ridotto da anidride carbonica a glucosio, con un processo di organizzazione (passaggio da una forma inorganica, CO_2 , ad una forma organica, $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$). Gli elettroni per la riduzione del carbonio vengono forniti dall'acqua che si ossida ad ossigeno, mentre l'energia proviene direttamente dalla radiazione luminosa ed è catturata dai pigmenti fotosintetici

La fotosintesi fornisce agli organismi vegetali zuccheri semplici che possono essere immediatamente utilizzati, mediante la respirazione cellulare, come fonte di energia per il metabolismo, oppure immagazzinati per essere utilizzati successivamente. Nelle piante le riserve sono rappresentate da amido, che viene accumulato nel parenchima di organi come le radici o i tuberi. Poiché, dunque, gli organismi fotosintetici non devono introdurre con l'alimentazione (come invece gli animali) le molecole organiche da cui trarre energia, ma sono in grado di sintetizzarle da soli, essi sono considerati **autotrofi**. Gli animali sono eterotrofi e quindi non sono autonomi dal punto di vista alimentare: la loro esistenza dipende dalle piante.

L'importanza della fotosintesi risiede nel fatto che essa converte l'energia solare in una forma di energia utilizzabile da tutti i viventi. Gli organismi fotosintetici formano il primo anello della catena alimentare e poiché producono sostanza organica sono detti organismi produttori. Gli animali erbivori che se ne nutrono formano il secondo anello, i carnivori che si cibano degli erbivori formano il terzo anello e così via. L'energia solare, convertita in energia chimica con la fotosintesi, fluisce dunque dal primo anello ai successivi e alimenta lo svolgimento di tutti i processi vitali. Inoltre, la fotosintesi fornisce come sottoprodotto l'ossigeno che viene utilizzato da tutti i viventi, compresi gli stessi organismi fotosintetici, per i processi di respirazione cellulare (ciò non riguarda gli organismi anaerobi, che vivono in ambienti privi di ossigeno).

La comparsa dei primi organismi fotosintetici, all'inizio dell'evoluzione della vita sulla Terra, determinò la modificazione dell'atmosfera primordiale, arricchendola di ossigeno. Sembra che i primi organismi capaci di fotosintesi siano stati i cianobatteri (o alghe azzurre) che contribuirono in modo particolare alla produzione dell'ossigeno atmosferico permettendo la nascita di specie aerobie, capaci di utilizzarlo mediante processi di respirazione.

Nello schema generale della fotosintesi si possono distinguere due fasi collegate tra loro: una **fase luminosa**, fotochimica, ed una **fase oscura**, chimica.

La fase luminosa avviene solo in presenza di luce ed è localizzata nelle membrane dei tilacoidi

La fase oscura è indipendente dalla luce ed è localizzata nello stroma.

La fase luminosa consiste nella cattura da parte dei pigmenti fotosintetici situati nei tilacoidi della radiazione luminosa e nella sua trasformazione in legami ad alta energia tramite la sintesi di **ATP** e la riduzione di **NADP⁺** a **NADPH**. In questa fase l'acqua viene ossidata ad ossigeno al fine di fornire gli elettroni necessari alla riduzione del **NADPH⁺**. Durante la fase luminosa viene quindi liberato ossigeno gassoso O_2 .

Nella fase oscura, l'**ATP** e il **NADPH** forniscono l'energia e il potere riducente necessari per la riduzione della CO_2 a glucosio (organizzazione del carbonio, attraverso un ciclo biochimico noto come **ciclo di Calvin**).

5.4.1 Fase luminosa e fotosistemi

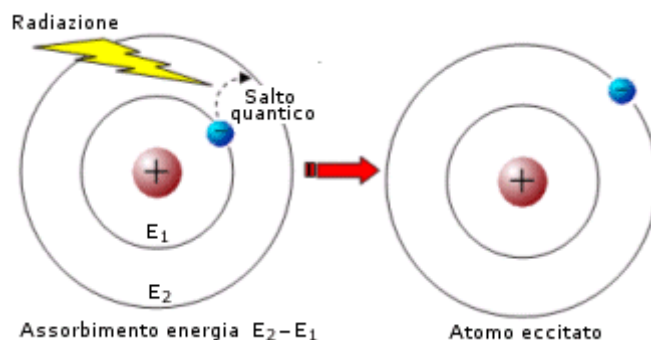
Sulle membrane si trovano molecole di pigmenti che formano due strutture molecolari dette **fotosistema I** e **fotosistema II**. Oltre alla clorofilla, vi sono anche pigmenti accessori, per lo più ficobiline e carotenoidi. Ogni tipo di pigmento è in grado di assorbire una particolare lunghezza d'onda della luce.

Ciò dipende dal fatto che ogni lunghezza d'onda, che corrisponde ad un diverso colore, trasporta una quantità ben precisa e caratteristica di energia. Secondo la teoria quantistica infatti la radiazione elettromagnetica può essere descritta come un flusso di pacchetti di energia, detti **quanti di radiazione** o **fotoni**. L'energia di ciascun fotone è inversamente proporzionale alla lunghezza d'onda della radiazione.

Come abbiamo già visto, gli elettroni degli atomi si muovono anch'essi in livelli energetici definiti (quantizzati) e per passare da un livello energetico inferiore (più vicino al nucleo) ad un livello energetico superiore (più distante dal nucleo) possono assorbire solo una quantità di energia ben definita, pari alla differenza di energia tra il livello energetico di arrivo e quello di partenza.

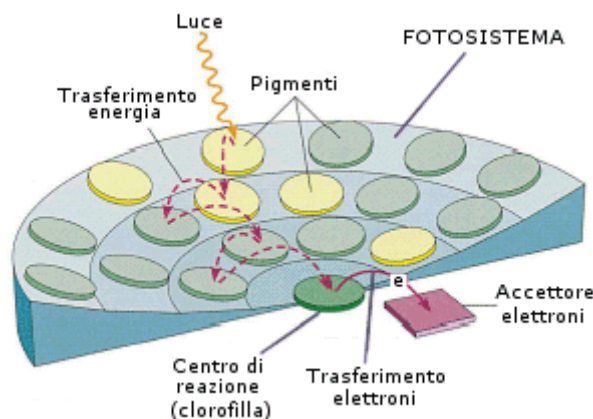
Ogni molecola presenta tuttavia livelli energetici diversi e caratteristici e quindi, affinché un elettrone passi da un livello ad un altro, la molecola può assorbire solo ben precise quantità di energia e quindi solo certe radiazioni luminose.

Quando un elettrone, illuminato da una radiazione opportuna, assorbe energia sotto forma di un fotone e passa ad un livello energetico superiore, si dice che effettua un **salto quantico** (o transizione elettronica) e la molecola passa ad uno **stato eccitato**. In questo modo ogni pigmento fotosintetico si comporta come un'antenna chimica in grado di assorbire solo certe radiazioni luminose.



Ad esempio la struttura elettronica della clorofilla è tale per cui, colpita da luce bianca (che contiene tutti i colori), assorbe le lunghezze d'onda corrispondenti al blu ed al rosso, mentre riflette il verde (ed è per questo che ci appare di questo colore).

Le molecole che hanno assorbito energia, e si trovano in uno stato eccitato, sono in una situazione di instabilità che le porterà a riemettere tale energia. I fotosistemi sono sistemi di pigmenti organizzati in modo tale da assorbire la radiazione luminosa e da trasferirla, tramite assorbimenti e riemissioni, ad una molecola di **clorofilla a**, detta **centro di reazione** del fotosistema. L'energia in questo modo si concentra (una sorta di imbuto energetico) ed è sufficiente a strappare un elettrone al centro di reazione provocando in questo modo una reazione chimica, l'ossidazione del centro di reazione che cede elettroni ad una molecola, detta **accettore primario** del fotosistema.



Il fotosistema I ha il massimo di assorbimento a lunghezza d'onda 700 nm, perciò viene chiamato **P 700**. Il fotosistema II, per ragioni analoghe, **P 680**.

I due fotosistemi lavorano in modo integrato, generando un flusso di elettroni, alimentato dall'energia luminosa, che li percorre partendo dall'acqua fino a raggiungere il NADPH.

Il fotosistema II lavora ad un livello energetico leggermente inferiore rispetto al fotosistema I.

1) Gli elettroni del centro di reazione del fotosistema II, spinti dai fotoni assorbiti ad un livello di energia superiore, vengono captati dall'accettore primario del fotosistema (plastoquinone).

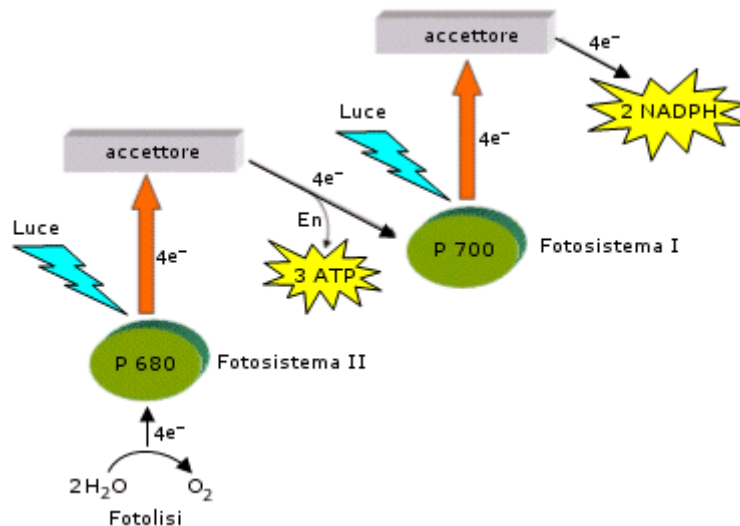
2) Gli elettroni vengono successivamente ceduti dall'accettore primario del fotosistema II attraverso una catena di trasporto degli elettroni, al centro di reazione del fotosistema I che si trova ad un livello energetico inferiore. Durante questa discesa si libera energia che viene

utilizzata per sintetizzare ATP (**fotofosforilazione**) L'ATP è il primo prodotto della fase luminosa, che verrà utilizzato nella fase oscura.

3) Gli elettroni giunti al centro di reazione del fotosistema I, spinti dai fotoni assorbiti ad un livello di energia superiore, vengono captati dall'accettore primario del fotosistema I e da qui vengono ceduti al NADP^+ che si riduce a **NADPH** che è il secondo prodotto della fase luminosa, che verrà utilizzato, per il suo potere riducente, nella fase oscura.

4) Il centro di reazione del fotosistema II viene continuamente rifornito di elettroni dalla reazione di **fotolisi** (si legge fotòlisi) dell'acqua in cui l'acqua, in presenza di luce, viene ossidata ad ossigeno molecolare

L'intera fase luminosa può essere rappresentata attraverso il cosiddetto **schema a Z**, riportato di seguito



Le reazioni della fase luminosa possono essere così riassunte:

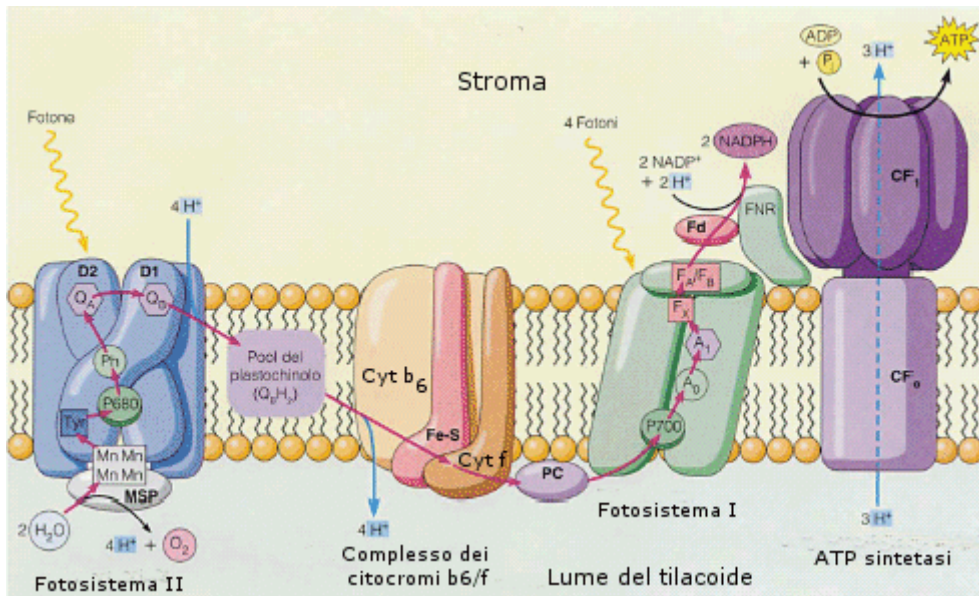


La sintesi di ATP è legata al flusso di elettroni, che può essere *ciclico* o *non ciclico*. Ai due tipi di flusso corrispondono la **fotofosforilazione ciclica** e la **fotofosforilazione non ciclica**.

La maggior parte delle piante utilizzano il **flusso non ciclico**, che abbiamo appena visto e che risulta più efficiente, portando alla sintesi anche del NADPH. Nel flusso non ciclico il movimento degli elettroni avviene lungo l'intera **via Z** poiché gli elettroni iniziano e terminano il loro spostamento a livello di sostanze diverse.

Nel **flusso ciclico** degli elettroni fotosintetici il movimento avviene lungo un percorso che si chiude ad anello con il **P700** del fotosistema I. Gli elettroni passano dall'accettore primario del fotosistema I ad un trasportatore che non fa parte della via Z, il **citocromo b6** e vengono restituiti al centro di reazione del Fotosistema I. Questo processo, poco efficiente, è probabilmente molto antico dal punto di vista evolutivo ed appare come un residuo delle prime vie metaboliche messe a punto dai primi microrganismi procarioti fotosintetici

Il meccanismo che accoppia la sintesi di ATP con il trasporto degli elettroni nei cloroplasti viene spiegato dall'**ipotesi chemioosmotica di Mitchell** (già vista nel processo di respirazione aerobica). La produzione di ATP è accoppiata alla formazione di un gradiente di protoni (ioni H^+) durante la fotosintesi. Alcune molecole (complesso citocromo-b6/citocromo-f) che partecipano al trasferimento degli elettroni da un fotosistema all'altro sono infatti in grado di pompare ioni H^+ nel lume dei tilacoidi (**pompe protoniche**) il quale diventa più acido rispetto allo stroma del cloroplasto (formazione di un gradiente elettrochimico). Anche la fotolisi dell'acqua libera ioni H^+ nel lume dei tilacoidi. La sintesi di ATP avviene come conseguenza del ritorno dei protoni nello stroma, in risposta al gradiente generato, attraverso le **ATP-sintetasi** situate nelle membrane dei tilacoidi.

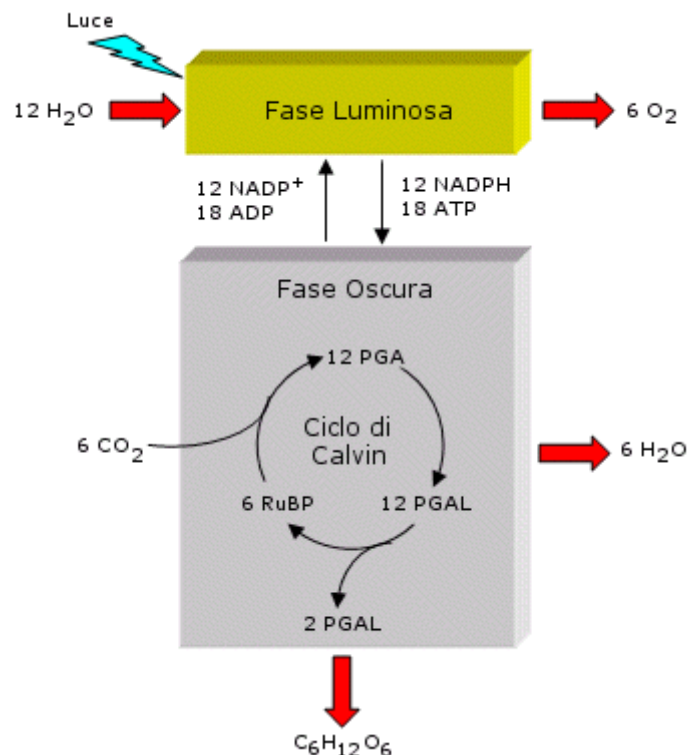


5.4.2 Fase oscura e ciclo di Calvin-Benson

La fase oscura si svolge nello stroma dei cloroplasti, dove l'energia immagazzinata in ATP e NADPH viene impiegata per ridurre l'anidride carbonica in carbonio organico. Ciò avviene tramite una serie di reazioni, conosciute come ciclo di Calvin-Benson (detto anche **ciclo C3** poiché la maggior parte delle molecole che lo costituiscono possiedono 3 atomi di carbonio). Ad ogni ciclo una molecola di anidride carbonica si combina con uno zucchero a 5 atomi di carbonio, chiamato ribulosio-1,5-difosfato (**RuDP**), per formare due molecole di un composto a 3 atomi di carbonio, chiamato 3-fosfoglicerato (**PGA**). Il PGA viene ridotto dal NADPH e fosforilato dall'ATP trasformandosi in un composto a 3 atomi di carbonio, la gliceraldeide-3-fosfato o fosfogliceraleide (**PGAL**). Dopo sei cicli, ciascuno dei quali consuma una molecola di anidride carbonica, due di NADPH e tre di ATP, vengono prodotte 12 molecole di PGAL, due delle quali si combinano a formare una molecola a 6 atomi di carbonio, il glucosio, mentre le rimanenti rigenerano il RuDP. Le reazioni della fase oscura possono essere così riassunte:



L'intero processo può essere così schematizzato:



5.4.3 Pianta C4

Ad elevate temperature e con ridotta disponibilità di acqua le piante tendono a chiudere gli stomi delle foglie per ridurre la perdita d'acqua per evaporazione. In queste condizioni tuttavia l'anidride carbonica non può entrare nella foglia, mentre l'ossigeno prodotto dalla fotosintesi si accumula all'interno. In presenza di un rapporto O_2/CO_2 elevato all'interno della foglia si innesca un processo di **fotorespirazione**. Sebbene l'enzima ribuloso bisfosfato carbossilasi (**rubisco**) aggiunga di preferenza CO_2 al RuBP, a basse concentrazione di CO_2 , può utilizzare anche O_2 . Il RuBP reagisce con l'ossigeno per dare solo una molecola di PGA ed una di acido fosfoglicolico.

Una minor quantità di PGA rallenta il ciclo di Calvin e lo sviluppo della pianta ne risente.

Piante come la canna da zucchero, il mais e altre piante dette piante C4 sono tuttavia in grado di sintetizzare carboidrati anche quando il rapporto O_2/CO_2 è sfavorevole.

In queste piante l'anidride carbonica non partecipa direttamente al ciclo di Calvin, ma viene "temporaneamente" trasformata, a livello delle cellule del mesofillo della foglia, in un composto detto **PEP** (fosfoenolpiruvato) con successiva formazione di ossalacetato, un composto a 4 atomi di carbonio (da cui il nome C4). Questo viene a sua volta trasformato in un altro composto a 4 atomi di carbonio, il malato (o l'aspartato, a seconda della specie vegetale), che migra dal mesofillo alle cellule che circondano i fasci conduttori (cellule della guaina del fascio). Qui il malato (o l'aspartato) viene riconvertito in anidride carbonica, CO_2 , che viene infine coinvolta nelle reazioni del ciclo di Krebs. Questo tipo di fotosintesi si riscontra principalmente in piante che vivono nelle regioni tropicali. Nelle piante C4 la fotosintesi si svolge infatti in modo ottimale a temperature più alte di quelle richieste dalle piante C3. Inoltre, le C4 riescono a fiorire a temperature alle quali le C3 non sopravvivono. La resa della fotosintesi con ciclo C4 (ossia la quantità di zuccheri prodotti rispetto all'anidride carbonica utilizzata) è superiore a quella della fotosintesi C3. In altre parole, le piante C4 riescono ad effettuare la fotosintesi alla stessa velocità delle C3, ma aprendo in misura inferiore gli stomi, limitando in tal modo anche la perdita di acqua.

5.4.4 Pianta CAM

La fotosintesi CAM (acronimo di Crassulacean Acid Metabolism, ossia metabolismo acido delle crassulacee) avviene in modo analogo alla fotosintesi con ciclo C4: anch'essa, infatti, prevede una fase iniziale in cui l'anidride carbonica viene trasformata in composti a 4 atomi di carbonio e una fase successiva in cui questi vengono riconvertiti in anidride carbonica, che viene coinvolta nella reazione del ciclo di Krebs. Le due fasi avvengono in due momenti separati. La prima avviene di notte, quando i composti a 4 atomi di carbonio (soprattutto acido malico) appena sintetizzati vengono accumulati in speciali vacuoli. La seconda fase avviene di giorno. Questo tipo di fotosintesi è tipico, come indica il suo stesso nome, di molte piante succulente, come le crassulacee e le cactacee, e rappresenta un adattamento ai climi caldi e aridi in cui tali piante vivono. Infatti, la fase che richiede l'apertura degli stomi, per permettere l'ingresso della CO_2 , avviene di notte, quando l'ambiente risulta più fresco e umido; la seconda fase può invece avvenire di giorno, perché non richiede l'apertura degli stomi. In tal modo, le succulente evitano pericolose perdite di acqua. Anche alcune specie non succulente come l'ananas effettuano la fotosintesi CAM.

6 Divisione cellulare: mitosi e meiosi

Una delle funzioni fondamentali e caratteristiche della cellula è quella di dividersi in due cellule figlie. Esistono due tipi di divisione cellulare: la mitosi e la meiosi.

La **mitosi** è una divisione cellulare in cui le cellule figlie presentano il medesimo corredo cromosomico della cellula madre. Durante un processo mitotico una cellula diploide ($2n$) genera due cellule diploidi geneticamente identiche ad essa (clonazione). Gli organismi unicellulari utilizzano la mitosi per riprodursi (un batterio si scinde in due batteri tramite mitosi). Gli organismi pluricellulari utilizzano la mitosi per aumentare il numero delle loro cellule (sviluppo ed accrescimento) e successivamente per sostituire le cellule morte ed invecchiate. Il corpo degli organismi pluricellulari è composto da molti miliardi di cellule, unite fra loro a formare tessuti e organi deputati a svolgere funzioni specifiche. Tutte le cellule di un organismo pluricellulare derivano infatti da un'unica cellula, lo **zigote** che si forma dall'unione di un gamete femminile (uovo) con un gamete maschile (spermatozoo) tramite il processo

della fecondazione. Una volta formatosi, lo zigote genera tutte le cellule somatiche attraverso una serie di mitosi. Nella specie umana lo zigote completa l'accrescimento dopo una cinquantina di mitosi, formando quindi circa $2^{50} \approx 10^{15}$ cellule.

La **meiosi** è una divisione cellulare in cui le cellule figlie presentano un corredo cromosomico dimezzato rispetto alla cellula madre. Durante un processo meiotico una cellula madre diploide genera cellule figlie aploidi tra loro geneticamente diverse. La meiosi viene utilizzata dagli organismi pluricellulari per creare le loro cellule riproduttive o germinali, i **gameti**. La meiosi ha dunque una funzione riproduttiva negli organismi pluricellulari, generando le cellule aploidi che dovranno poi fondersi durante la fecondazione per rigenerare il corredo diploide dello zigote. La meiosi, come vedremo, ha il compito di creare "variabilità genetica", producendo cellule aploidi geneticamente una diversa dall'altra in modo tale che i nuovi individui che si generano per unione di due gameti siano geneticamente dissimili.

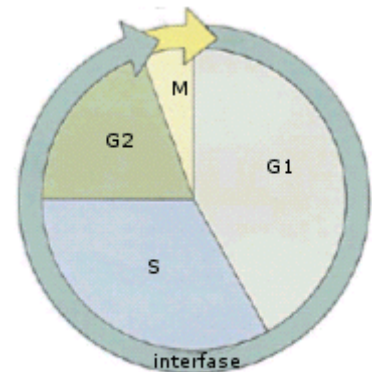
6.1 La mitosi ed il ciclo cellulare

L'intervallo di tempo tra una mitosi e l'altra è definito **interfase** la quale di solito occupa la maggior parte del ciclo vitale della cellula. Il succedersi di interfase e fase mitotica definisce il cosiddetto **ciclo cellulare**. L'interfase si suddivide a sua volta nelle fasi G1, S e G2.

La prima tappa o **fase G1** (G = growth = crescita) è di solito molto più lunga delle altre fasi del ciclo cellulare. In questo periodo, la cellula cresce ed adempie alle sue funzioni specifiche nell'ambito del tessuto di cui fa parte, aumentando le sue dimensioni ed il numero dei suoi organuli.

Durante la **fase S** (S = sintesi) si ha la replicazione (o duplicazione) del DNA.

La **fase G2** copre l'intervallo tra la fine della fase S e l'inizio della fase M. è relativamente corta e rappresenta il periodo in cui la cellula si prepara alla divisione mitotica.



Ciclo cellulare

Alcuni tipi cellulari procedono continuamente attraverso il ciclo cellulare, come nel caso di tessuti in crescita o ad alto ricambio cellulare, mentre le cellule differenziate e specializzate interrompono il ciclo cellulare dopo la fase M, entrando in uno stato funzionale designato come **fase G0** (G zero). Le cellule in grado di dividersi facoltativamente entrano nella fase G0, ma mantengono la capacità di entrare in ciclo se opportunamente stimolate.

In generale, le fasi S, G2, M hanno una durata relativamente costante, di parecchie ore, mentre la fase G1 è molto variabile, potendo durare anche parecchi giorni. La fase G0 può durare per l'intera vita dell'organismo.

La **mitosi** è un processo continuo che viene tradizionalmente suddiviso in quattro fasi: profase, metafase, anafase e telofase.

Ogni fase è facilmente riconoscibile al microscopio ottico. La divisione cellulare richiede la presenza di una struttura chiamata **apparato mitotico** che comprende un fuso di microtubuli disposti longitudinalmente tra due strutture chiamate **centrioli** ai due poli della cellula. L'apparato mitotico è visibile nel citoplasma solo durante la fase M del ciclo, poiché si disassembla rapidamente al termine della mitosi.

Profase (*formazione cromosomi e fuso mitotico, scomparsa membrana nucleare*)

la cromatina si condensa fino a formare i cromosomi, ciascuno costituito da due cromatidi (i cromosomi si sono già duplicati nel corso della precedente fase S), che diventano visibili all'interno del nucleo. I nucleoli e la membrana nucleare scompaiono. I centrioli migrano ai poli opposti della cellula mentre fra essi si forma un fascio di microtubuli (microtubuli interpolari). Quando i centrioli si separano, i microtubuli si allungano progressivamente per l'aggiunta di subunità di tubulina: si forma il fuso mitotico.

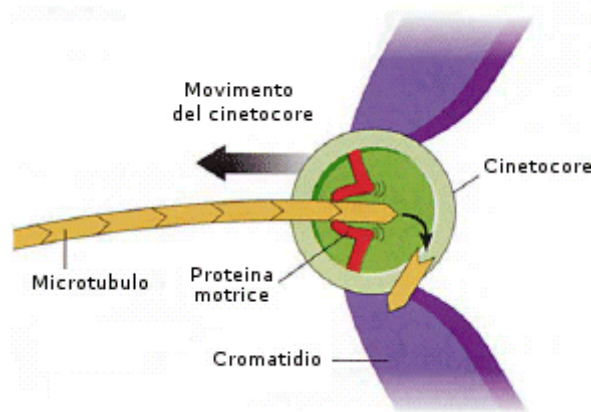
Metafase (*formazione piastra equatoriale*)

I cromosomi duplicati si agganciano alle fibre del fuso mediante il **cinetocore**. Il cinetocore è un'area appiattita presente in ciascun cromosoma duplicato in corrispondenza del **centromero**, la struttura che mantiene legati insieme i due cromatidi. I cromosomi si

dispongono quindi nella parte mediana del fuso formando una struttura, nota come **piastra equatoriale** o **piastra della metafase**.

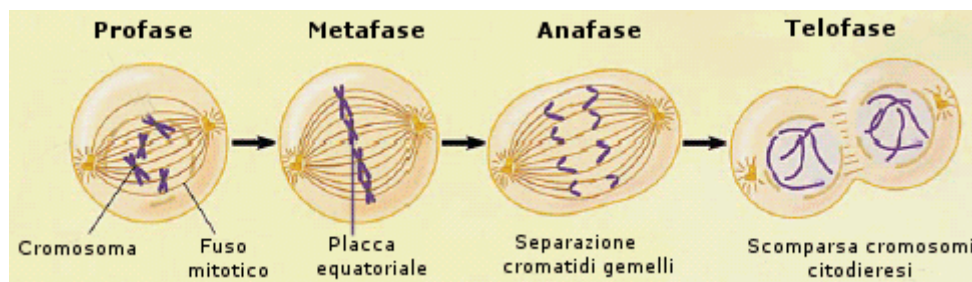
Anafase (*separazione e migrazione cromatidi*)

Separazione del centomero che lega i cromatidi di ogni cromosoma duplicato. I cromatidi di ogni cromosoma duplicato sono tirati dai tubuli connessi a livello del cinetocore, verso le estremità opposte del fuso. Ciò permette un'esatta divisione del materiale genetico duplicato. Al termine dell'anafase, due gruppi di cromosomi identici (i precedenti cromatidi) sono ammassati ai poli opposti della cellula.



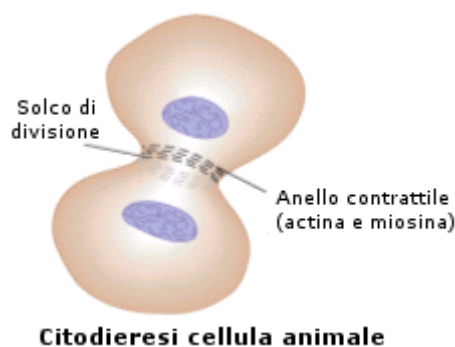
Telofase (*scomparsa cromosomi e fuso mitotico, formazione membrana nucleare e citodieresi*)

I cromosomi si despiralizzano e si dissolvono in cromatina. Intorno ai due nuovi complessi cromosomici ricompaiono le membrane nucleari. La telofase si conclude con la **citodieresi** (o citocinesi) con cui la cellula si divide nelle due cellule figlie. All'inizio della fase G1, il fuso mitotico si disassembla ed in molti tipi cellulari, i centrioli cominciano a duplicarsi in previsione della successiva divisione mitotica.

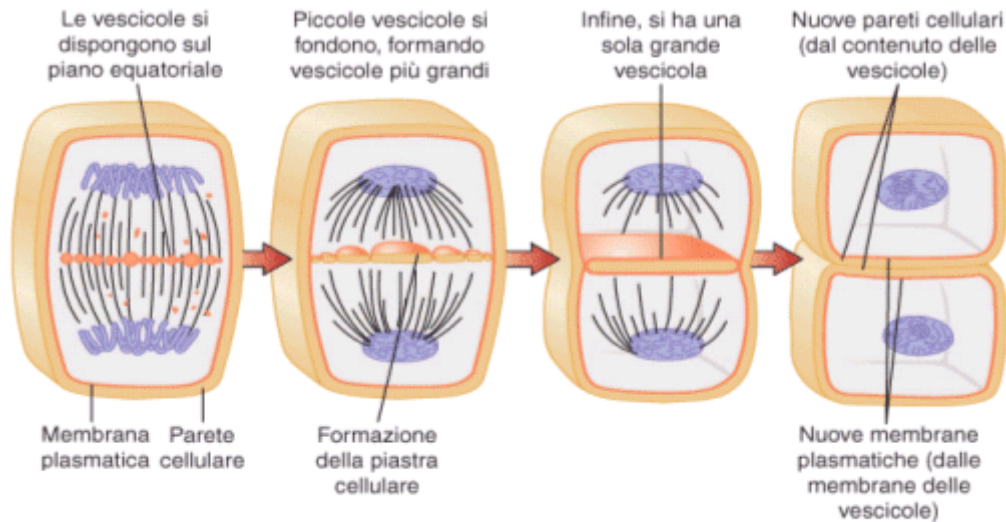


La citodieresi avviene con modalità diverse nelle cellule animali e vegetali.

Nella cellula animale La membrana plasmatica si introflette a livello della zona equatoriale in modo tale da formare un solco intorno alla cellula. Questo circonda progressivamente la cellula, strozzandola finché questa non si divide in due cellule figlie. Un anello di microfilamenti (actina) è presente appena sotto il solco di divisione e si ritiene che la citodieresi avvenga per la contrazione di questo anello.



Nella cellula vegetale l'apparato di Golgi produce una serie di vescicole (**fragmosomi**) contenenti polisaccaridi. Queste si vanno a depositare sulla linea mediana, si fondono insieme e formano una parete chiamata **piastra cellulare**. Quando questa lamella è completata ogni cellula costruisce la sua membrana cellulare utilizzando le membrane delle vescicole che si sono fuse.



Citodieresi cellula vegetale

6.2 Meiosi

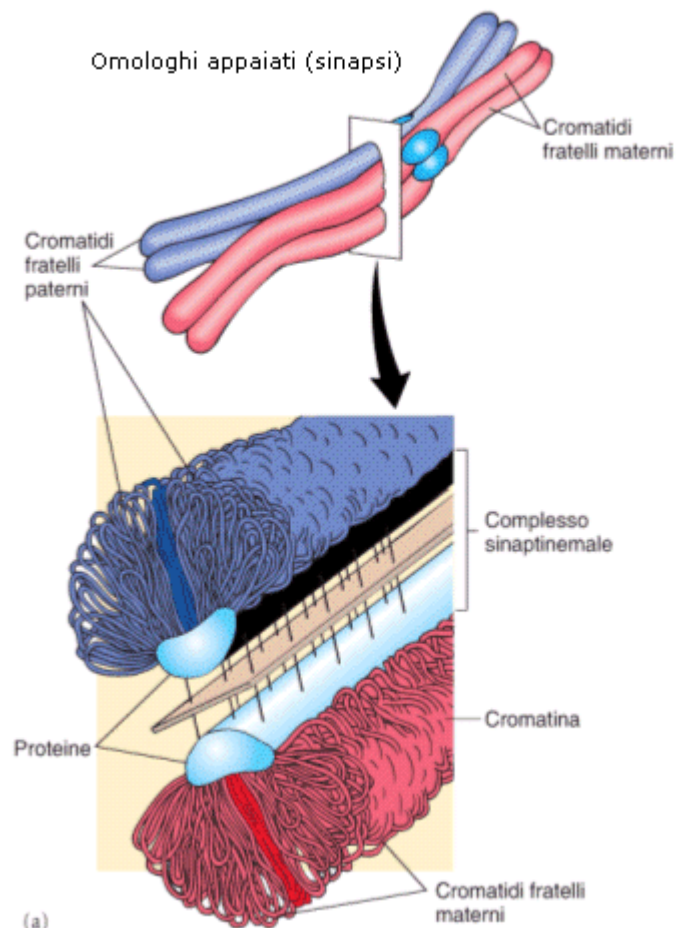
La meiosi è il processo di divisione mediante il quale una cellula diploide dà origine a quattro cellule aploidi. La meiosi avviene solo nelle cellule germinali delle gonadi (testicoli ed ovaie) e porta alla formazione dei gameti (spermatozoi ed ovuli). La divisione meiotica è perciò parte della **gametogenesi**. La meiosi comprende due processi di divisione cellulare (meiosi I e meiosi II), dei quali, solo il primo è preceduto da duplicazione del DNA. Ciascuno dei due processi si divide in *profase*, *metafase*, *anafase* e *telofase*

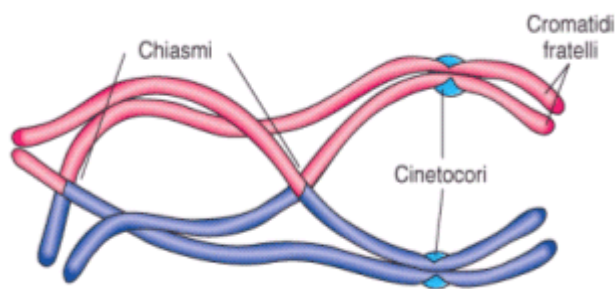
Prima divisione meiotica

La prima divisione meiotica determina la formazione di due cellule figlie aploidi. Questo processo si differenzia dalla mitosi per due aspetti importanti che si realizzano rispettivamente in profase ed anafase:

Durante la profase I i cromosomi omologhi si appaiono e si uniscono longitudinalmente grazie ad una struttura proteica detta **complesso sinaptonemale**. Questa fase di appaiamento è detta **sinapsi**.

Successivamente i cromatidi iniziano a separarsi (desinapsi) rimanendo però incrociati in punti detti **chiasmi**, formando strutture a 4 cromatidi note come **tetradi** (o bivalenti). In questo modo gli omologhi si scambiano tratti di DNA attraverso un processo noto come **crossing-over**. Quando i due omologhi si separeranno alcuni geni del cromosoma paterno si saranno spostati su quello materno e viceversa, con una **ricombinazione** del patrimonio genetico. Il crossing-over è il primo meccanismo con cui si crea variabilità genetica durante la meiosi e che consente ai gameti aploidi che si formeranno di essere geneticamente diversi uno dall'altro.





Durante l'anafase I, dopo che le tetradi si sono andate a disporre sulla piastra equatoriale, gli omologhi si separano e migrano verso i poli opposti del fuso. Si noti la differenza con la mitosi in cui vi era una separazione dei cromatidi di ciascun omologo. In questo caso i cromatidi rimangono uniti, mentre si separano gli omologhi. Ogni coppia di omologhi è formata da un cromosoma di provenienza materna ed uno di provenienza paterna. La

separazione dei cromosomi materni e paterni avviene in modo casuale. Ciascuna coppia si separa in modo indipendente da quello che fanno le altre. Questo processo è noto come **assortimento indipendente degli omologhi** ed è il secondo meccanismo con cui si crea variabilità genetica durante la meiosi. In questo modo infatti le cellule aploidi che si creano alla fine della prima divisione meiotica possono presentare 2^{23} diverse combinazioni di cromosomi materni e paterni. Se ad esempio consideriamo un corredo cromosomico costituito da 3 coppie di omologhi che indichiamo con M_1P_1 , M_2P_2 ed M_3P_3 . L'assortimento indipendente degli omologhi potrebbe generare 2^3 gameti differenti per la combinazione di cromosomi materni/paterni:

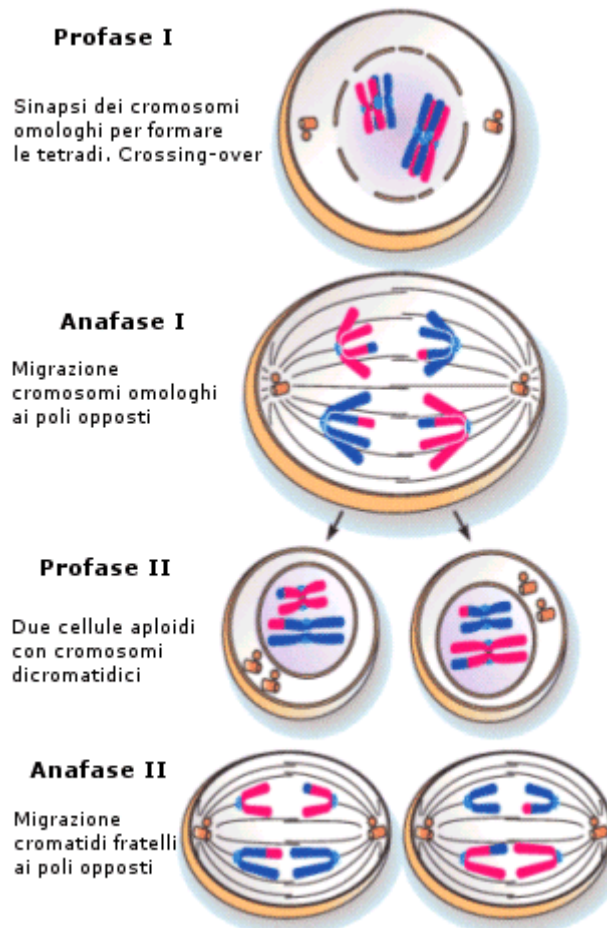
$M_1M_2M_3$ $P_1M_2M_3$ $M_1P_2M_3$ $M_1M_2P_3$ $P_1P_2M_3$ $P_1M_2P_3$ $M_1P_2P_3$ $P_1P_2P_3$

Seconda divisione meiotica

Durante la seconda divisione meiotica ciascuna cellula aploide generatasi dalla meiosi I si divide formando due cellule aploidi, per un totale di 4 cellule aploidi. Questo processo è molto simile ad una mitosi, in quanto durante l'anafase II ciascun cromosoma si separa nei due cromatidi che ancora lo costituiscono, i quali migrano poi ai poli opposti della cellula.

Le differenze tra MEIOSI II e MITOSI sono :

- la meiosi II non è preceduta dal processo di duplicazione del DNA
- la meiosi II genera cellule aploidi a partire da cellule aploidi, mentre la mitosi genera cellule diploidi a partire da cellule diploidi.



7 Genetica

La genetica nasce verso la metà dell'Ottocento con gli esperimenti di Gregor Mendel, un abate austriaco che per primo individuò le **leggi dell'ereditarietà** che regolano la trasmissione dei caratteri da una generazione all'altra. La genetica mendeliana è oggi nota come **genetica classica** o **genetica formale**.

Gli studi sull'eredità compiuti da Mendel furono pubblicati nel 1865 ma rimasero quasi totalmente ignorati fino all'inizio del '900, quando furono riscoperti da tre botanici che stavano lavorando sull'incrocio di alcune varietà vegetali (Hugo de Vries, Karl Correns e Erich Tschermak von Seysenegg).

A partire dagli anni '30 e '40 del Novecento alla genetica classica si sono aggiunte la *genetica di popolazione* e successivamente la *genetica molecolare*.

La **genetica di popolazione** nasce dalla fusione dei principi della genetica mendeliana con la teoria dell'evoluzione (teoria sintetica dell'evoluzione). Negli anni '30 vennero messi a punto modelli matematici e statistici in grado di simulare l'effetto dell'eredità mendeliana sulla dinamica evolutiva delle popolazioni. La genetica di popolazione studia la struttura genetica delle popolazioni (distribuzione dei caratteri all'interno di un gruppo di individui) ed i processi evolutivi ai quali essa è sottoposta. (dinamica delle variazioni di frequenza dei caratteri e cause che le provocano).

La **genetica molecolare** nasce in seguito alla scoperta che la base chimica e molecolare dell'eredità è costituita dagli acidi nucleici, principalmente il DNA. La genetica molecolare studia la struttura biochimica del gene e la relazione esistente tra geni e caratteri osservabili. A partire dagli anni '70, con l'impiego delle tecniche della biologia molecolare, si è aperta la strada alla manipolazione del materiale genetico e quindi allo sviluppo dell'**ingegneria genetica**.

7.1 Genetica classica

Alla base della genetica formale c'è il concetto di **gene**, fattore ereditario legato ad una particolare caratteristica morfologica o fisiologica dell'individuo, detta **carattere**. Da un punto di vista molecolare il gene è il tratto di DNA che controlla la manifestazione di un carattere, in genere codificando per una particolare proteina. I geni sono contenuti nei cromosomi. Un **cromosoma** può essere visto come un'ordinata successione di geni. A causa di mutazioni avvenute durante il processo evolutivo di una specie, un gene può presentarsi con delle forme varianti, dette **forme alleliche** o **alleli** (dal greco *allellos* = l'uno o l'altro, alternativo). Ad esempio il gene che controlla la comparsa sui globuli rossi umani del marcatore per il sistema AB0 esiste in tre varianti alleliche (I^A , I^B , i). I^A che codifica per il marcatore A, I^B che codifica per il marcatore B, i che non codifica per alcun marcatore (0, zero).

Negli organismi diploidi, le cui cellule contengono due serie di cromosomi omologhi ($2n$), ciascun gene è portato sia dall'omologo materno che dall'omologo paterno. In altre parole, anche se in natura un carattere presenta più di due forme alleliche (come accade per i 3 alleli del sistema AB0) in un particolare individuo diploide il carattere si presenta sempre con due alleli che occupano la medesima posizione (**locus**) nei due cromosomi omologhi.

Ovviamente i due alleli che controllano un particolare carattere in un individuo potranno essere uguali o diversi. Ad esempio per il carattere AB0 un individuo potrà presentare le seguenti combinazioni alleliche $I^A I^A$, $I^B I^B$, ii , $I^A I^B$, $I^A i$, $I^B i$.

Un individuo i cui due alleli per la determinazione di un carattere sono uguali si dice **omozigote** per quel carattere.

Un individuo i cui due alleli per la determinazione di un carattere sono diversi si dice **eterozigote** per quel carattere.

La particolare combinazione di alleli che controlla un carattere si definisce **genotipo**.

Ogni genotipo genera una manifestazione osservabile di un carattere che si definisce **fenotipo**.

Nella genetica formale l'**espressione di un gene** è il modo in cui il genotipo si traduce nel fenotipo, determinando un carattere.

Nel caso di **omozigosi** (due alleli uguali) il fenotipo non può che riflettere l'unica informazione esistente nel genotipo.

Nel caso di **eterozigosi** invece il genotipo può manifestarsi con fenotipi differenti a seconda del tipo di interazione che si produce tra i due alleli diversi. In particolare si possono presentare tre tipi di relazione: *dominanza completa*, *dominanza incompleta* e *codominanza*.

- Si ha **dominanza completa** (o semplicemente **dominanza**) quando uno dei due alleli prevale sull'altro ed è l'unico a manifestarsi, determinando il fenotipo. L'allele che si manifesta è detto **dominante**. L'allele che rimane latente è detto **recessivo**. Per convenzione l'allele dominante viene indicato con una lettera maiuscola (ad esempio **A**) e l'allele recessivo con la corrispondente minuscola (ad esempio **a**). Dal punto di vista molecolare *l'allele recessivo non viene utilizzato o non codifica un prodotto funzionale*. L'unico prodotto che viene a formarsi è quello codificato dall'allele dominante. L'allele dominante si esprime sempre. Ciò comporta che gli eterozigoti (genotipo = Aa) siano indistinguibili dagli omozigoti dominanti (genotipo = AA), avendo lo stesso fenotipo, detto fenotipo completamente dominante. La comparsa del fenotipo recessivo, invece, identifica senza ambiguità un omozigote recessivo (genotipo = aa). Gli **eterozigoti** (Aa) e gli **omozigoti dominanti** (AA) per un determinato gene mostrano l'effetto dell'allele dominante, mentre gli **omozigoti recessivi** (aa) mostrano l'effetto dell'allele recessivo. Così se il gene che determina il colore di un fiore presenta un allele dominante rosso (R) ed un allele recessivo bianco (r), in natura avremo che gli individui con genotipo omozigote dominante (RR) e gli individui con genotipo eterozigote (Rr) si presenteranno entrambi con i fiori rossi (presentano il medesimo fenotipo). Mentre gli individui con genotipo omozigote recessivo (rr) si presenteranno con i fiori bianchi.
- Si parla invece di **dominanza incompleta** (detta anche intermedia) quando il fenotipo dell'eterozigote è una mescolanza tra il fenotipo dell'omozigote dominante e quello dell'omozigote recessivo. In questo caso dal fenotipo si può sempre risalire al genotipo. Ad esempio il colore del fiore della bocca di leone può essere rosso (omozigote dominante RR), rosa (eterozigote Rr) o bianco (omozigote recessivo rr). La spiegazione in termini molecolari è che in un eterozigote è presente il prodotto funzionale solo di un allele. Vi è quindi una sola dose del prodotto genico e ne deriva un fenotipo intermedio rispetto all'omozigote dominante in cui sono presenti due dosi del prodotto genico e all'omozigote recessivo in cui il prodotto genico non viene espresso (nessuna dose di prodotto genico). Nel caso della dominanza completa, metà della quantità di proteina prodotta è invece sufficiente per consentire un fenotipo normale. Si dice che l'allele presenta **aplosufficienza**, ossia il prodotto genico è sufficiente a garantire un fenotipo normale, anche se presente in singola dose.
- Nella **codominanza**, in un individuo eterozigote si osserva l'espressione fenotipica di entrambi gli alleli, non mescolati, ma separati. In altri termini, l'eterozigote manifesta i fenotipi di entrambi gli omozigoti. Esempi di codominanza sono il colore pezzato del mantello di molti mammiferi ed i sistemi di gruppo sanguigno AB0. Gli individui eterozigoti (genotipo = $I^A I^B$) sono di gruppo sanguigno AB, perché vengono espressi sia l'antigene A (prodotto dall'allele I^A) che l'antigene B (prodotto dall'allele I^B) e sulla membrana dei loro globuli rossi sono presenti entrambi i marcatori. La natura di "dominante" o "codominante" non dipende dal singolo allele, ma dalla coppia di alleli considerata. Perciò tra differenti alleli di un gene vi possono essere entrambe le relazioni. Ad esempio, nel carattere "gruppo sanguigno del sistema AB0" gli alleli I^A e I^B , che determinano la comparsa dei rispettivi marcatori, sono tra loro codominanti, mentre dominano (completamente) sull'allele i , che non produce alcun antigene (0, zero).

Genotipo	Fenotipo (gruppo sanguigno)
$I^A I^A$ (omozigote dominante)	A
$I^B I^B$ (omozigote dominante)	B
$i i$ (omozigote recessivo)	0
$I^A I^B$ (eterozigote)	AB
$I^A i$ (eterozigote)	A
$I^B i$ (eterozigote)	B

Le leggi della genetica classica traggono origine dai risultati di incroci. In genere gli incroci non si interrompono alla prima generazione, ma gli individui ottenuti vengono incrociati per più generazioni.

Gli individui iniziali, i genitori, costituiscono la **generazione parentale** o **generazione P**.

I figli vanno a formare la **prima generazione filiale** o **generazione F₁**.

I nipoti vanno a formare la **seconda generazione filiale** o **generazione F₂** e così via.

7.2 Mendel: le leggi dell'ereditarietà

I primi esperimenti sul meccanismo dell'eredità furono compiuti verso il 1860 da **Gregor Mendel** (1882-1884), in un monastero nell'attuale Brno, eseguendo incroci su piante di pisello (*Pisum sativum*). I risultati ottenuti da Mendel vengono tradizionalmente riassunti in alcune leggi (le leggi di Mendel). Se si confrontano i diversi manuali di genetica si noterà che la formulazione delle leggi varia sia per quanto riguarda il numero (due o tre leggi) che per ciò che riguarda l'ordine di enunciazione e la loro denominazione. In effetti Mendel non formulò alcuna legge, ma i suoi risultati sono più agevolmente esprimibili e riassumibili sotto forma di enunciati.

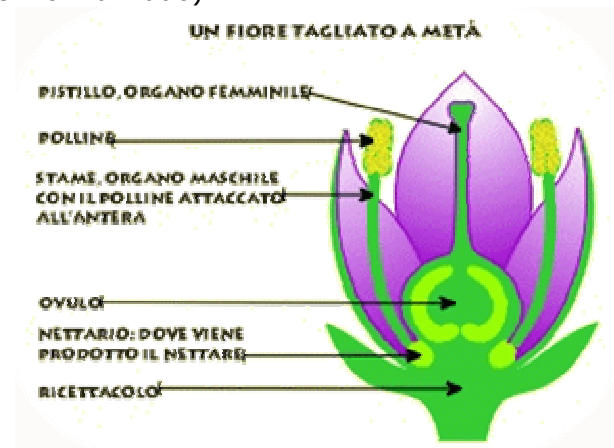
Inoltre, nell'enunciare queste due o tre leggi, la maggior parte dei trattati di genetica è costretta a far uso dei concetti di *gene*, *allele*, *omozigote* ed *eterozigote*. Si tenga comunque presente che tali concetti erano totalmente estranei a Mendel. Infatti i termini *allelomorfo*, *omozigote* ed *eterozigote* furono introdotti solo nel 1902 da Bateson, mentre il termine *gene* fu coniato da Johannsen nel 1909.















Mendel si occupò di caratteri che si presentavano nel fenotipo secondo modalità ben distinte che non ammettevano forme intermedie. I risultati ottenuti da Mendel si applicano dunque solo a questo tipo di caratteri, noti come **caratteri mendeliani** o **caratteri discreti** o **caratteri a variabilità discontinua**. Si tenga presente che tali caratteri non sono molto diffusi in natura. La maggior parte dei caratteri sono infatti **caratteri a variabilità continua**, come l'altezza di un individuo, il colore della pelle etc.

La pianta di pisello (*Pisum sativum*), su cui lavorò Mendel, risultò particolarmente adatta per questo tipo di esperimenti. È infatti di facile coltivazione, può dare più di una generazione all'anno, presenta parecchi caratteri a variabilità discontinua, ma soprattutto si riproduce per **autofecondazione**. Il fiore infatti non si schiude finché i gameti maschili (polline) non abbiano fecondato gli ovuli femminili dello stesso fiore (ricordiamo che anche la pianta di pisello, come la maggior parte dei vegetali, è **ermafrodita**, presenta cioè sia l'apparato riproduttore maschile che quello femminile riuniti in un medesimo individuo).

Non potendo dunque ricevere polline da altre piante (fecondazione incrociata), la pianta di pisello non riceverà neppure caratteri diversi da quelli propri. In queste condizioni si osserva che i discendenti di un certo individuo presenteranno sempre i medesimi caratteri, identici a quelli dei genitori. Gli individui di questo tipo costituiscono una **linea pura**. Per Mendel fu dunque relativamente semplice isolare linee pure che differivano per un carattere ed incrociarle, praticando su di esse la fecondazione artificiale. L'operazione richiede che il fiore venga aperto e ne vengano recisi gli stami contenenti il polline per evitare l'autofecondazione. Successivamente l'organo femminile viene fecondato con il polline proveniente da un'altra pianta. Se si incrociano due linee pure che differiscono per un carattere gli individui che si ottengono non appartengono ovviamente più ad una linea pura e vengono definiti **ibridi (monoibridi)**.

Le ricerche sui piselli impegnarono MENDEL dal 1854 al 1864. In questo periodo egli coltivò e analizzò almeno 28.000 piante della specie *Pisum Sativum*, prendendo in considerazione sette coppie di caratteri del seme e della pianta quali l'altezza, la posizione dei fiori, la forma e il colore dei semi.



	dominante	recessivo		dominante	recessivo
Altezza dello stelo (alto/basso)			Forma del baccello (pieno/compresso)		
Forma del seme (liscio/rugoso)			Colore del baccello (giallo/verde)		
Colore del seme (giallo/verde)			Posizione del fiore (assiale/terminale)		
			Colore del fiore (viola/bianco)		

Mendel incrociò fra loro a due a due linee pure che differivano per un carattere (pianta alta x pianta bassa, pianta con semi verdi x pianta con semi gialli, etc.), classificando e contando gli esemplari ottenuti in ciascuna generazione e cercando di individuare l'esistenza di precisi rapporti matematici tra i diversi individui presenti ad ogni generazione.

I risultati di questi incroci portarono Mendel a conclusioni in netto contrasto con il modello generalmente accettato allora dell'**eredità per rimescolamento**, secondo il quale "essenze" di ciascuno dei due genitori, trasmesse attraverso liquidi simili al sangue, contribuivano "mescolandosi" alla formazione dei figli. Mendel avanzò invece l'ipotesi che l'eredità fosse "*particolata*", cioè che i diversi caratteri ereditari fossero portati da strutture biologiche discrete e distinte, **unità di eredità** (o fattori unitari), anche se a quel tempo non vi erano prove dirette per dimostrarne l'esistenza, e che noi oggi chiamiamo geni ed alleli.

Egli aveva infatti notato che, incrociando piante di piselli che si differenziavano per singoli caratteri facilmente individuabili, non si ottenevano ibridi con caratteri mescolati, ma la generazione F_1 era formata da individui che presentavano sempre il carattere di uno solo dei due genitori. In termini moderni diremo che il carattere che si manifesta è **dominante**, quello che rimane nascosto è **recessivo**.

7.2.1 Legge della dominanza

In uno dei suoi esperimenti, Mendel incrociò piante di pisello che da molte generazioni producevano solo fiori violetti con piante che da molte generazioni producevano solo fiori bianchi. Egli usò il polline prodotto da piante a fiori violetti per fecondare piante a fiori bianchi. Fece anche l'operazione inversa, cioè fecondò con polline proveniente da piante a fiori bianchi piante a fiori violetti. Il risultato era sempre il medesimo: in F_1 gli ibridi presentavano sempre fiori violetti.

La riproduzione sessuale avviene infatti grazie alla formazione di gameti (ovuli e spermatozoi), cellule aploidi che si formano tramite meiosi, un processo in cui i cromosomi omologhi, che ospitano i due alleli di un carattere, si separano. Successivamente, durante la fecondazione, l'unione casuale dei gameti produce la ricongiunzione degli alleli.

7.2.3 Incroci: frequenza e probabilità (il quadrato di Punnett)

Quando si osservano i risultati di un incrocio, si misurano le frequenze con cui compaiono determinati caratteri. Se, ripetendo più volte il medesimo incrocio, le frequenze con cui compaiono certi caratteri si attestano sempre intorno a determinati valori, allora possiamo utilizzare questi valori come una stima della probabilità che quel determinato risultato si verifichi come conseguenza dell'incrocio in questione.

Un esempio servirà a chiarire.

Se lancio 100 volte una moneta in aria potrò ottenere 55 volte 'testa' e 45 volte 'croce'. 'Testa' compare con una frequenza del 55%. 'Croce' compare con una frequenza del 45%.

Se rifaccio più volte i 100 lanci mi accorgerò che le frequenze con cui compaiono 'testa' e 'croce' oscillano sempre intorno al 50%, anche se difficilmente saranno esattamente pari al 50%. Posso anche facilmente verificare che le frequenze con cui compaiono i due eventi (Testa e Croce) si avvicineranno tanto più al 50% quanto più alto sarà il numero di lanci.

In effetti la **frequenza** è una grandezza che si misura ed è il rapporto tra il numero di volte che un determinato evento effettivamente si verifica ed il numero totale di prove effettuate (Frequenza = rapporto tra gli eventi favorevoli osservati e gli eventi totali)

La **probabilità** è invece una grandezza che si calcola ed è il rapporto tra il numero di eventi favorevoli ed il numero di eventi possibili.

La probabilità che quando lancio una moneta esca 'testa' è del 50% (0,5) poiché vi è solo un caso favorevole (solo 1 lato della moneta presenta 'testa') mentre 2 sono i casi possibili (due sono le facce della moneta). Ma anche se la probabilità che esca testa è pari allo 0,5 (50%), la frequenza con cui uscirà 'testa' se lancio effettivamente la moneta difficilmente sarà sempre del 50%.

Sperimentalmente si osserva tuttavia che la frequenza di un evento si avvicina tanto più al valore calcolato della sua probabilità quanto più elevato è il numero di eventi osservati (è più probabile che la frequenza con cui esce 'testa' si avvicini al 50% se effettuo 1000 lanci piuttosto che se ne effettuo 10).

Da questa ultima osservazione scaturisce un'altra definizione di probabilità: la probabilità di un evento è il valore al quale tende la frequenza quando il numero degli eventi osservati tende ad infinito.

Questo in definitiva è anche il motivo per il quale, per stimare la probabilità che da un incrocio si generi un particolare carattere piuttosto che un altro, dobbiamo incrociare un numero molto elevato di individui.

È allora ovvio che quando Mendel lasciò che i monoibridi F_1 si incrociassero non ottenne mai esattamente il 75% di individui dominanti ed il 25% di individui recessivi, ma misurò frequenze che oscillavano intorno a questi valori e ne desunse che le probabilità dovevano essere del 75% e del 25%.

È tuttavia possibile, dato un certo incrocio, calcolare le probabilità dei genotipi risultanti senza dover materialmente effettuare l'incrocio.

Per farlo dobbiamo conoscere i genotipi degli individui che si incrociano e simulare gli eventi che portano alla formazione dei nuovi individui: gametogenesi e fecondazione.

Si calcolano quindi le probabilità che durante la gametogenesi gli alleli del carattere in questione si trovino su di un determinato gamete e successivamente si calcolano le probabilità, attraverso un quadrato di Punnett, che i gameti femminili si 'incontrino' con i gameti maschili.

Il **quadrato di Punnett** è una tabella a doppia entrata che serve a simulare tutte le possibili combinazioni dei gameti maschili con quelli femminili (fecondazione) e a calcolare la probabilità dei genotipi che si generano come conseguenza dell'unione dei gameti. I gameti maschili (con le loro probabilità) vengono posti ad un lato del quadrato ed i gameti femminili (con le loro probabilità) vengono posti su di un lato adiacente al precedente. All'interno del quadrato vengono poi effettuate (come nel gioco della battaglia navale) tutte le combinazioni

tra le righe e le colonne. Le probabilità dei genotipi che si realizzano non sono altro che la probabilità di un evento composto, cioè la probabilità che due eventi semplici (il gamete maschile e quello femminile) si verifichino contemporaneamente.

La **probabilità di un evento composto** si calcola come il prodotto delle probabilità degli eventi semplici che concorrono alla sua uscita. Così le probabilità dei genotipi che si formano all'interno del quadrato di Punnett si calcola come prodotto delle probabilità dei singoli gameti che devono combinarsi per dare quel determinato genotipo.

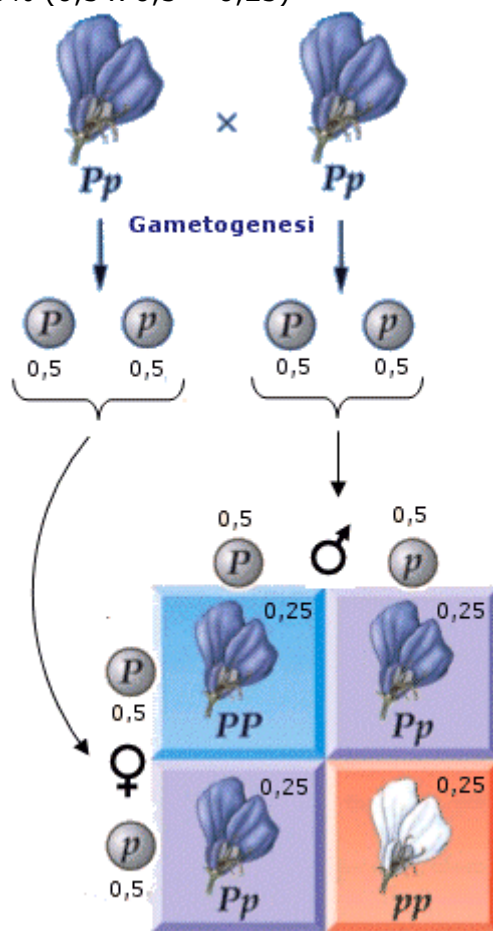
Ad esempio la probabilità che lanciando contemporaneamente un dado ed una moneta esca il numero 5 sul dado e 'testa' sulla moneta è pari a $1/6 \times 1/2 = 1/12$. La probabilità che esca il 6 è infatti $1/6$, la probabilità che esca 'testa' è $1/2$, la probabilità che escano contemporaneamente (evento composto) è $1/12$.

Proviamo allora a simulare l'incrocio tra due ibridi F1 a fiori violetti. Si tratta di due eterozigoti con genotipo Pp, (con P = purple, violetto = allele dominante e p = bianco = allele recessivo)

Per prima cosa dobbiamo simulare la gametogenesi (meiosi). Tenendo presente che l'allele dominante P si trova su di un cromosoma e l'allele recessivo p sul suo omologo e che durante la meiosi gli omologhi si separano ordinatamente a metà, avremo metà gameti che contengono l'allele dominanti e metà l'allele recessivo. In termini di probabilità potremo dire che ogni individuo eterozigote che partecipa all'incrocio ha una probabilità del 50% (0,5) di produrre gameti con l'allele dominante e del 50% (0,5) di produrre gameti con l'allele recessivo (si ricordi che la probabilità è teorica. Le frequenze con cui si generano realmente i gameti possono essere diverse, ad esempio per problemi di sopravvivenza degli stessi).

Una volta creati i gameti, li sistemiamo ai due lati del quadrato di Punnett con le loro probabilità. Da un lato i gameti maschili (♂) e dall'altro i gameti femminili (♀).

Ora costruiamo all'interno del quadrato tutte le 4 possibili combinazioni di gameti maschili e femminili. Questi sono i 4 genotipi che possono prodursi dall'incrocio. Ognuno di essi avrà una probabilità di formarsi del 25% ($0,5 \times 0,5 = 0,25$)







Quadrato di Punnett

Dall'incrocio di due ibridi si possono formare dunque un 25% di omozigoti dominanti (PP), un 50% di eterozigoti (Pp) ed un 25 % di omozigoti recessivi (pp). Si noti come, essendo gli

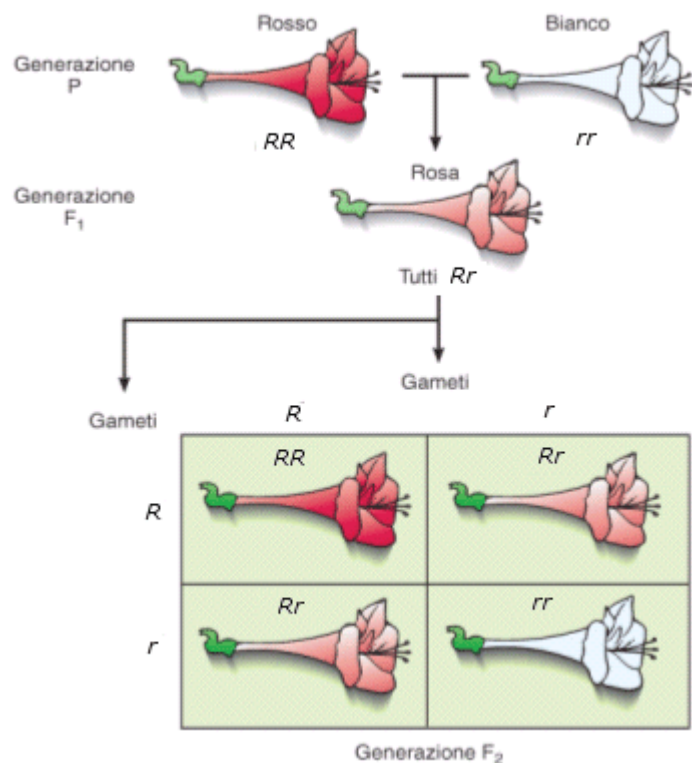
omozigoti dominanti e gli eterozigoti fenotipicamente uguali, l'incrocio produce un 75% di individui fenotipicamente dominanti ed un 25% di individui recessivi. Lo stesso risultato ottenuto sperimentalmente da Mendel.

I risultati di questa seconda serie di incroci possono dunque essere riassunti in termini moderni nella **legge della segregazione** o **legge della disgiunzione**: *l'incrocio tra due eterozigoti (ibridi) genera una generazione F_2 costituita da un 25% di omozigoti recessivi, da un 50% di eterozigoti e da un 25% di omozigoti dominanti*. Il rapporto fenotipico dominanti/recessivi è 3:1

F₁	Ibrido x Ibrido		
F₂	75% dominanti	25% recessivi	
	Genotipo	Fenotipo	
1	PP Omozigote dominante	 PP	Violetto
	Pp Eterozigote	 Pp	
	Pp Eterozigote	 Pp	
1	pp Omozigote recessivo	 pp	Bianco
	rapporto 1:2:1	rapporto 3:1	

Come abbiamo già anticipato, le leggi di Mendel non sono generali, ma presentano delle eccezioni (dominanza incompleta e codominanza). Non sempre esistono infatti un allele dominante ed uno recessivo per un dato carattere.

La pianta della bella di notte (*Mirabilis jalapa*) può avere fiori rossi, bianchi o rosa. Le piante con fiori rossi hanno due copie dell'allele R per il colore rosso dei fiori e sono, quindi, omozigoti dominanti RR . Le piante con fiori bianchi hanno due copie dell'allele r per il colore bianco dei fiori e sono, quindi, omozigoti recessivi rr . Le piante con una copia di ciascun allele, cioè gli eterozigoti Rr , hanno fenotipo rosa, intermedio tra i colori prodotti dai due alleli. Questo è un esempio del fenomeno di **dominanza incompleta**. Reincrociando tra loro gli individui F_1 , la F_2 presenterà tre classi fenotipiche in rapporto 1:2:1 (1/4 a fiore rosso, 2/4 a fiore rosa e 1/4 a fiore bianco) anziché di 3:1.



7.2.4 Reincrocio o Test-cross

Il reincrocio è una pratica della genetica sperimentale usata per determinare il genotipo incognito di una popolazione fenotipicamente dominante, la quale potrebbe essere composta sia da omozigoti dominanti che da eterozigoti.

La popolazione dominante viene incrociata con individui omozigoti recessivi (fenotipo recessivo). Si può dimostrare che la percentuale di eterozigoti presenti nella popolazione da testare è sempre il doppio della percentuale di recessivi che si ottengono dal test-cross. In particolare la percentuale di recessivi che si ottengono dal reincrocio può andare dallo 0% (nessun eterozigote: la popolazione da testare è tutta omozigote dominante) al 50% (la popolazione da testare è tutta eterozigote: il doppio di 50%).

Si prenda ad esempio una popolazione di cavie a pelo nero formata da una frazione X di omozigoti dominanti per il colore del pelo (BB dove B = Black, nero) ed una frazione Y di eterozigoti (Bb) (ovviamente $X+Y = 1$). Si incrocino ora gli individui con una popolazione di cavie recessiva a pelo marrone formata da omozigoti recessivi (bb)

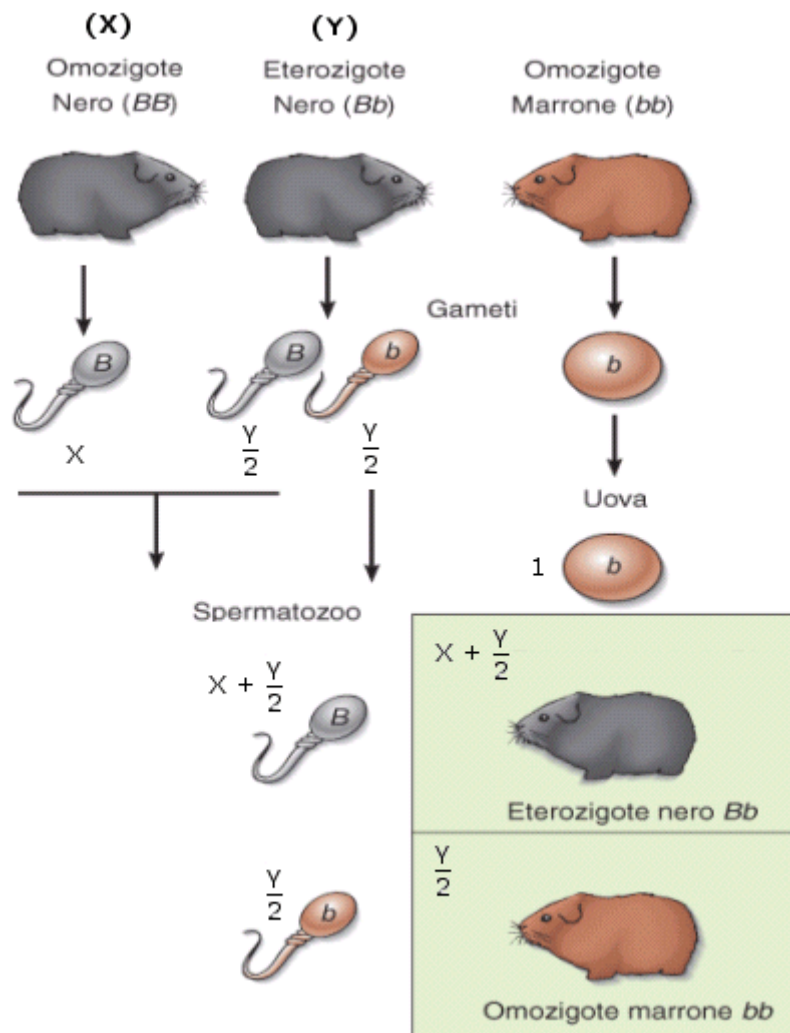
Simuliamo ora la gametogenesi e calcoliamo le probabilità di formazione dei diversi gameti.

Gli omozigoti dominanti produrranno solo gameti contenenti l'allele B e quindi formeranno una quantità X di gameti B

Gli eterozigoti produrranno metà gameti B e metà gameti b e quindi formeranno una quantità $Y/2$ di gameti B ed $Y/2$ di gameti b

Gli omozigoti recessivi produrranno un 100% (e quindi una frazione pari ad 1) di gameti b .

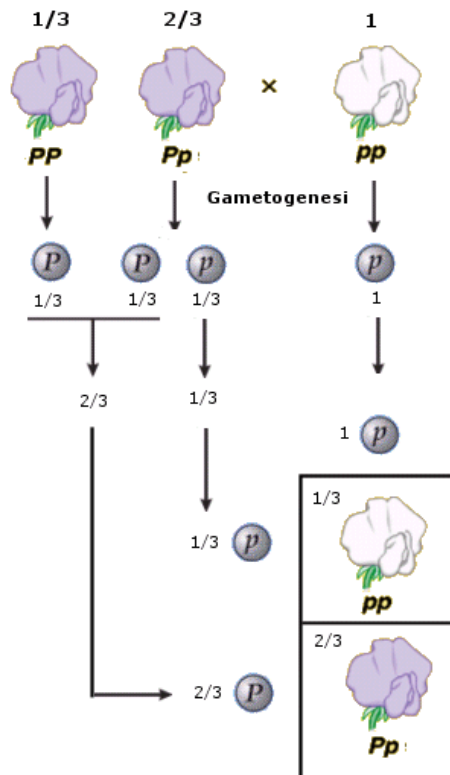
Inserendo ora questi dati nel quadrato di Punnett si osserva che si genera una frazione $Y/2$ di omozigoti recessivi (bb), esattamente la metà degli Y eterozigoti presenti nella popolazione da testare



Il reincrocio fu utilizzato da Mendel per determinare la percentuale di omozigoti dominanti e di eterozigoti che costituivano il 75% di individui fenotipicamente dominanti che si presentavano in F_2 dall'incrocio di due ibridi.

Se, ad esempio, effettuiamo un reincrocio del 75% di individui dominanti a fiori violetti (una popolazione che sappiamo formata per $2/3$ (il 50% di 75%) da eterozigoti Pp ed $1/3$ (il 25% di 75%) da omozigoti dominanti PP) con una popolazione recessiva a fiori bianchi, otteniamo

tipicamente 1/3 di individui a fiori bianchi (la metà degli eterozigoti presenti nella popolazione da testare).



7.2.5 Segregazione ed assortimento indipendente (legge dell'indipendenza)

Quando ebbe chiarito come avveniva la trasmissione di un singolo carattere, Mendel studiò la trasmissione di due caratteri alla volta, sempre effettuando incroci controllati e registrando tutti i risultati ottenuti.

Mendel eseguì un incrocio tra piante di linee pure che differivano contemporaneamente per due caratteri, per esempio forma e colore del seme (una linea pura a seme giallo e liscio ed una linea pura a seme verde e rugoso).

Si trattava di capire se i due caratteri venivano sempre ereditati insieme o se potevano essere trasmessi indipendentemente uno dall'altro. In altre parole, una pianta che presenta i semi gialli dovrà necessariamente ereditare anche il carattere 'seme liscio' o potrà presentare anche il carattere 'seme rugoso'?

La generazione F_1 risultò costituita esclusivamente da individui ibridi (**diibridi**) sia per la forma che per il colore del seme, con semi gialli e lisci. Questo risultato permetteva solo di affermare che la forma liscia è dominante sulla forma rugosa così come il colore giallo è dominante sul colore verde.

Effettuata l'autofecondazione di questi ibridi Mendel ottenne una generazione F_2 in cui erano presenti quattro tipi di semi nel rapporto di 9:3:3:1 e precisamente: semi gialli e lisci (9), semi verdi e lisci (3), semi gialli e rugosi (3), semi verdi e rugosi (1).

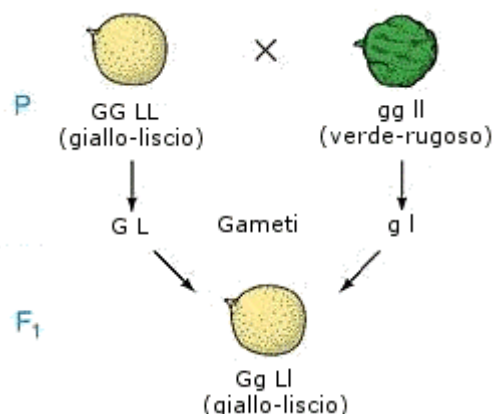
La comparsa di combinazioni fenotipiche nuove (ricombinanti), non presenti nella generazione parentale (verdi-lisci e gialli-rugosi), con caratteri scambiati, permise a Mendel di affermare che le coppie di caratteri sono indipendenti e la trasmissione ad un discendente di uno o l'altro degli alleli di un carattere non influenza la probabilità di trasmettergli uno o l'altro degli alleli per l'altro carattere.

I risultati di questi incroci vengono solitamente sintetizzati nella **legge dell'indipendenza dei caratteri** o **legge dell'assortimento indipendente**: *L'incrocio tra due linee pure che differiscono per due caratteri produce una generazione F_1 di ibridi per entrambi i caratteri che, incrociati danno una generazione F_2 in cui sono presenti tutte le combinazioni fenotipiche nella proporzione 9 D/D : 3 D/R : 3 R/D : 1 R/R (D = fenotipo dominante; R = fenotipo recessivo).*

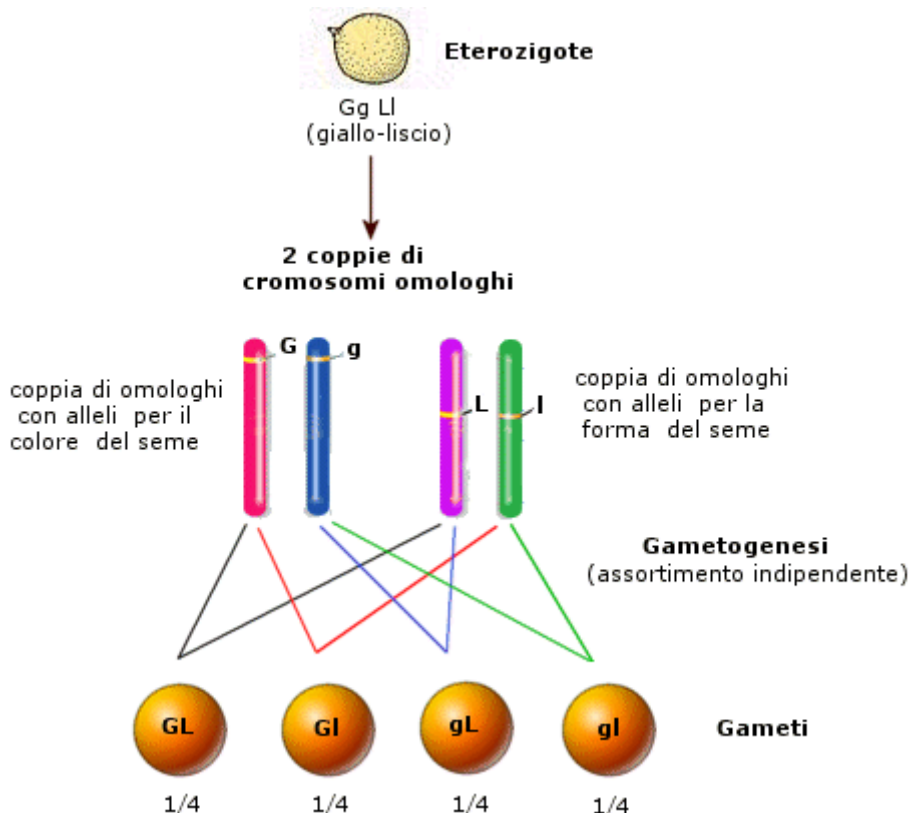
In realtà Mendel aveva studiato un caso particolare. Le coppie di caratteri analizzate da Mendel si trovavano infatti su diverse coppie di omologhi e questo permetteva loro, durante la meiosi di segregare l'una indipendentemente dall'altra (assortimento indipendente).

Se una coppia di caratteri è portata dalla medesima coppia di omologhi, i due alleli appartenenti a caratteri diversi, che si trovano sul medesimo omologo tendono ovviamente ad essere trasmessi insieme. In questo caso i caratteri si dicono **associati** o **linked** e, come vedremo, non forniscono in F_2 la medesima distribuzione di frequenza (9:3:3:1) trovata da Mendel.

















L'incrocio parentale produrrebbe ibridi eterozigoti per entrambi i caratteri sia nel caso di caratteri indipendenti (portati da coppie diverse di omologhi) che per caratteri associati (portati dalla medesima coppia di omologhi) è infatti evidente che l'individuo GG LL (omozigote dominante per entrambi i caratteri) non può produrre che gameti **G L**, mentre l'individuo gg ll (omozigote recessivo per entrambi i caratteri) non può produrre che gameti **g l**. Dall'unione di questi due gameti si produrranno necessariamente un 100% di eterozigoti per entrambi i caratteri Gg Ll.











L'incrocio dei diibridi F_1 tramite autofecondazione è invece più complesso. Infatti, trattandosi di caratteri indipendenti, il carattere colore del seme è portato da una coppia di omologhi, mentre il carattere forma del seme è portato da un'altra coppia di omologhi. Durante la gametogenesi il cromosoma che contiene l'allele G ha il 50% di probabilità di segregare in un gamete con il cromosoma che contiene l'allele L e il 50% di probabilità di segregare con il cromosoma che contiene l'allele l. Ovviamente questo vale anche per l'altro omologo, che contiene l'allele g. In questo modo, l'assortimento indipendente degli omologhi genera 4 tipi di gameti: GL, Gl, gL, gl, ciascuno con una probabilità del 25% (1/4).



Se ora sistemiamo questi 4 tipi di gameti in un quadrato di Punnett, possiamo ottenere tutti i genotipi possibili.

		Gameti ♂			
		GL $\frac{1}{4}$	gL $\frac{1}{4}$	gl $\frac{1}{4}$	Gl $\frac{1}{4}$
♀ Gameti	GL $\frac{1}{4}$	GG LL $\frac{1}{16}$ 	Gg LL $\frac{1}{16}$ 	Gg Ll $\frac{1}{16}$ 	GG Ll $\frac{1}{16}$ 
	gL $\frac{1}{4}$	Gg LL $\frac{1}{16}$ 	gg LL $\frac{1}{16}$ 	gg Ll $\frac{1}{16}$ 	Gg Ll $\frac{1}{16}$ 
	gl $\frac{1}{4}$	Gg Ll $\frac{1}{16}$ 	gg Ll $\frac{1}{16}$ 	gg ll $\frac{1}{16}$ 	Gg ll $\frac{1}{16}$ 
	Gl $\frac{1}{4}$	GG Ll $\frac{1}{16}$ 	Gg Ll $\frac{1}{16}$ 	Gg ll $\frac{1}{16}$ 	GG ll $\frac{1}{16}$ 

9  : 3  : 3  : 1 

 **Giallo Liscio**  **Giallo Rugoso**
 **Verde Liscio**  **Verde Rugoso**

In effetti i due caratteri vengono trasmessi come fossero due caratteri singoli e obbediscono pertanto alla seconda legge di Mendel (legge della segregazione). Per ognuno di essi ritroviamo infatti una distribuzione 3:1 (75% di dominanti e 25% di recessivi) tipica dell'incrocio di un monoibrido. La distribuzione 9:3:3:1 di un di ibrido nasconde due distribuzioni 3:1 di due monoibridi.

Infatti se prendiamo in considerazione il primo carattere (colore del seme), su 16 individui, 12 sono dominanti (gialli) e 4 sono recessivi (verdi), con un rapporto fenotipico di 12:4 = 3:1.

Se invece prendiamo in considerazione il secondo carattere (forma del seme), su 16 individui, 12 sono dominanti (lisci) e 4 sono recessivi (rugosi), con un rapporto fenotipico di 12:4 = 3:1



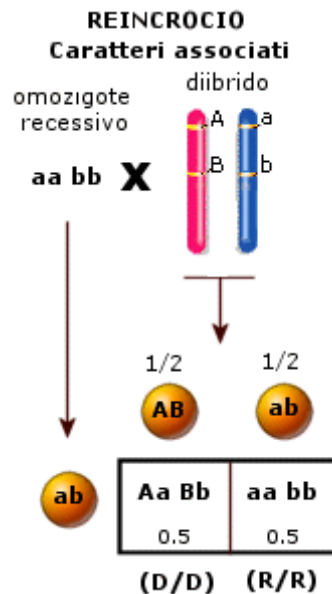
Vediamo ora cosa ci saremmo dovuti attendere se i due caratteri fossero stati associati, se fossero stati cioè ospitati sulla medesima coppia di omologhi. In questo caso, per un generico diibrido AaBb, si sarebbero potuti formare solo due tipi di gameti (e non 4 come nel caso di caratteri indipendenti). I due caratteri si sarebbero comportati come un unico carattere, generando una distribuzione 3:1, con il 75% di individui dominanti (di cui il 50% di eterozigoti

E' possibile verificare se due caratteri sono indipendenti o associati anche reincrociando i diibridi F_1 con individui omozigoti recessivi per entrambi i caratteri.

REINCROCIO Caratteri indipendenti



- 2) se i caratteri sono associati il diibrido genera solo 2 tipi di gameti con egual probabilità (1/2) e dal reincrocio si ottengono solo le combinazioni fenotipiche parentali (50% D/D e 50% R/R)



Vedremo tuttavia che questa previsione teorica non sempre viene rispettata poiché anche i caratteri associati possono in qualche misura ricombinarsi come conseguenza del processo di crossing-over che avviene durante la meiosi e possono pertanto produrre piccole percentuali di individui ricombinanti.

Si tenga presente che in molti testi di genetica le prime due leggi di Mendel (Legge della dominanza e legge della segregazione) sono riunite in un unico enunciato e che, in questo caso la terza legge di Mendel (legge dell'assortimento indipendente) diventa la seconda.

7.3 Morgan: l'associazione di geni ed il crossing-over

L'importanza dell'analisi mendeliana dell'ereditarietà sta nel fatto che le leggi della segregazione e dell'assortimento indipendente dei fattori genetici (alleli) possono essere formulate anche senza sapere qual è la loro natura fisica e quali sono le strutture cellulari che li ospitano. I primi a rendersi conto che vi era uno stretto parallelismo tra il comportamento dei fattori genetici mendeliani ed i cromosomi furono nel 1902 lo statunitense Walter Sutton ed il tedesco Theodor Boveri. I cromosomi omologhi sono infatti due come i fattori genetici mendeliani, si separano durante la meiosi nei gameti (segregazione dei fattori genetici) ed i gameti si ricombinano casualmente durante la fecondazione. L'ipotesi che le due forme alleliche di un gene fossero portate dai cromosomi omologhi è nota come **teoria cromosomica dell'ereditarietà**.

La teoria cromosomica dell'ereditarietà venne confermata pochi anni dopo dal lavoro sperimentale dello statunitense T.H.Morgan e dai suoi collaboratori

Tra il 1910 ed il 1920 Thomas H.Morgan (1866 – 1945) condusse un'importante serie di esperimenti sul moscerino della frutta (*Drosophila melanogaster*). L'insetto si riproduce rapidamente (circa 15 giorni), genera molti discendenti, si alleva facilmente e possiede solo 4 coppie di cromosomi. I ricercatori del gruppo di Morgan sottoposero a diversi agenti mutageni i moscerini al fine di indurre la comparsa di nuovi caratteri ed incrociarono i mutanti con le varietà selvatiche, verificando le leggi dell'ereditarietà mendeliana.

A differenza del *pisum sativum* usato da Mendel, la *Drosophila* non è autofecondante e quindi per ottenere linee pure (individui omozigoti per un determinato carattere) è necessario selezionarli. In altre parole è necessario incrociare tra loro individui che presentano il carattere da selezionare, scartando ad ogni generazione gli individui che manifestano caratteri differenti fino a quando si ottengono, per più generazioni, solo individui che presentano il carattere desiderato.

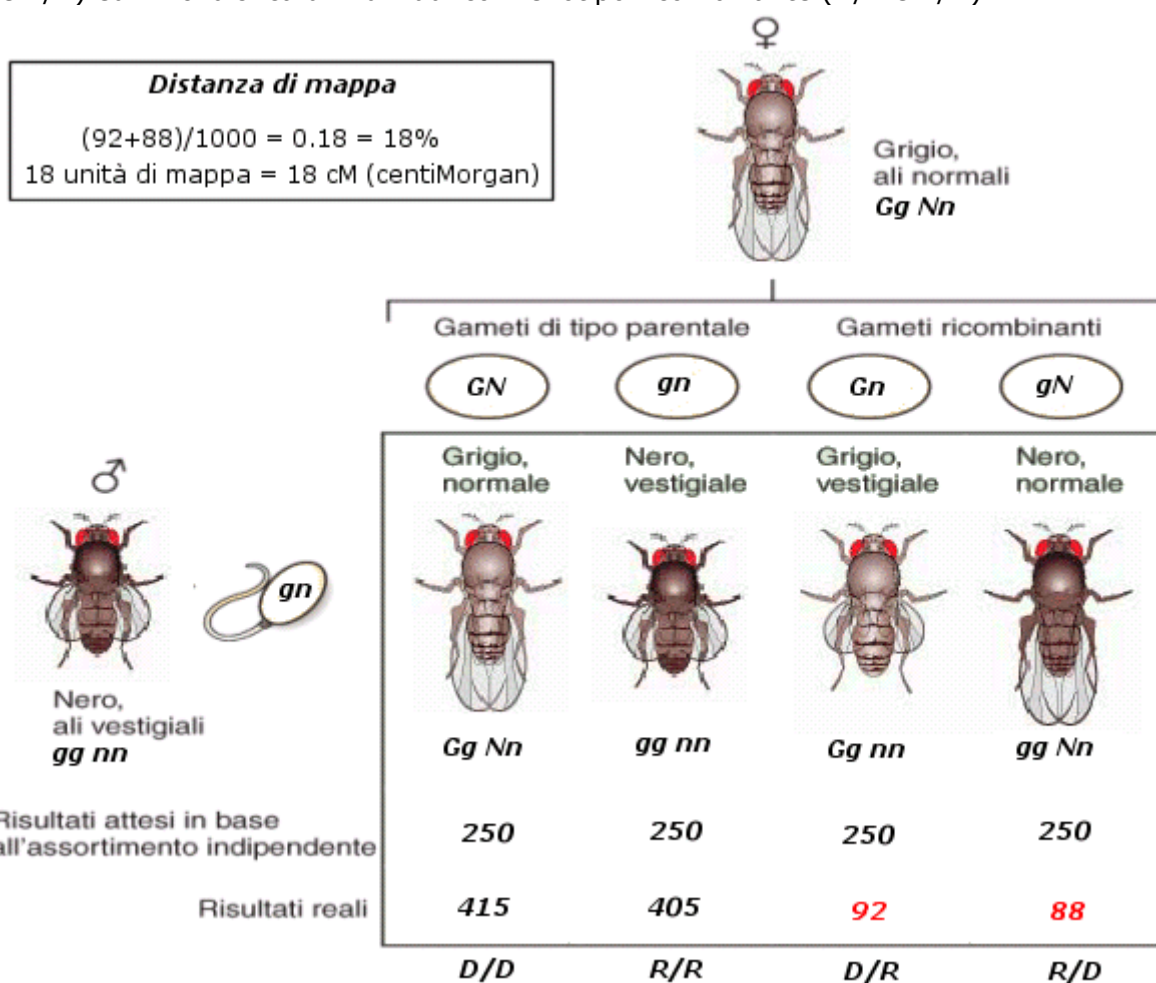
I risultati degli incroci dimostrarono che non sempre gli alleli di due geni differenti segregano in modo indipendente, come aveva evidenziato Mendel. Gli alleli segregano in modo indipendente solo se i geni sono posti su coppie differenti di cromosomi omologhi. Se i due geni si trovano invece sulla stessa coppia di omologhi i loro alleli, in prima approssimazione, non possono segregare in modo indipendente. I geni che tendono a rimanere insieme, perché posti sulla stessa coppia di omologhi, si dicono appartenenti allo stesso **gruppo di associazione**. Il numero dei gruppi di associazione corrisponde al numero delle coppie di cromosomi omologhi.

Morgan e il suo gruppo scoprirono tuttavia che tale associazione è raramente assoluta. Le combinazioni di caratteri presenti nei genitori possono, infatti, rimescolarsi nella discendenza.

In uno dei suoi esperimenti Morgan incrociò una linea pura selvatica a Corpo grigio ed ali normali con una linea pura mutante a corpo nero ed ali atrofiche (o vestigiali). In F_1 ottenne tutti ibridi a corpo grigio ed ali normali. Il colore grigio (allele G) è dominante sul colore nero (allele g), le ali normali (allele N) sono dominanti sulle ali atrofiche (allele n).

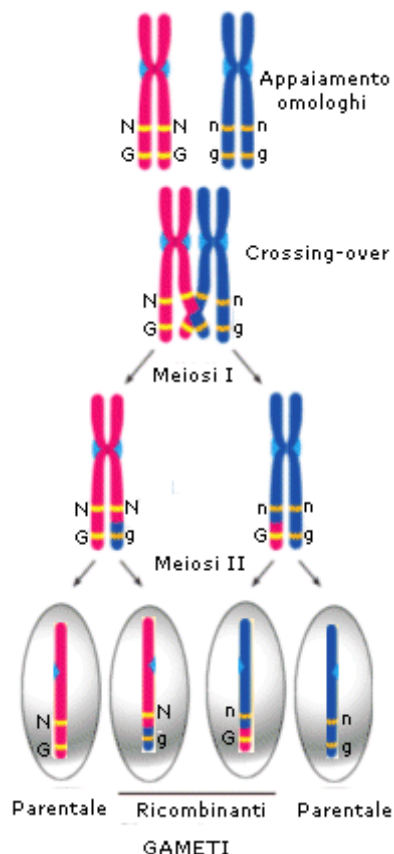
Successivamente Morgan reincrociò i diibridi F_1 con individui recessivi a corpo nero ed ali atrofiche. Ricordiamo che in questo caso i due caratteri sono associati se si ottiene una progenie con solo i fenotipi parentali (D/D e R/R) in egual proporzione, mentre i due caratteri sono indipendenti se oltre ai fenotipi parentali si ottengono in egual proporzione anche i fenotipi ricombinanti (D/R e R/D).

In F_2 Morgan ottenne invece una situazione intermedia rispetto a quelle attese. Ottenne infatti tutte le combinazioni fenotipiche (D/D, D/R, R/D, R/R), ma non nella proporzione 1:1:1:1 tipica dei caratteri indipendenti. Ottenne infatti l'80% circa di individui con fenotipo parentale (D/D e R/R) ed il 20% circa di individui con fenotipo ricombinante (D/R e R/D).



Morgan ipotizzò correttamente che i due caratteri fossero associati, ma che durante la meiosi avvenisse uno scambio fisico di materiale genetico tra le coppie di cromosomi omologhi, chiamato **crossing-over** (quando avviene, il crossing-over può essere osservato al

microscopio, perché i cromosomi omologhi appaiati sono congiunti e assumono una struttura a X con formazione di chiasmi).



7.3.1 Mappe cromosomiche

Morgan notò infine che prendendo in considerazione diverse coppie di caratteri associati, la percentuale di individui ricombinanti è diversa per ogni coppia di caratteri, ma caratteristica e costante per ciascuna coppia. Egli giustificò il fenomeno ipotizzando che il crossing-over sia un evento casuale che può avvenire con la stessa probabilità in un punto qualsiasi, lungo tutta la lunghezza del cromosoma. Di conseguenza la frequenza della ricombinazione tra due geni dipende dalla loro distanza sul cromosoma. Se i geni sono relativamente lontani vi è una maggior probabilità che il crossing-over interessi il tratto di cromosoma che li separa ed i gameti ricombinanti saranno di conseguenza frequenti, mentre se i geni sono più vicini è meno probabile che il crossing-over interessi il breve tratto di cromosoma che li separa ed i gameti ricombinanti saranno rari.

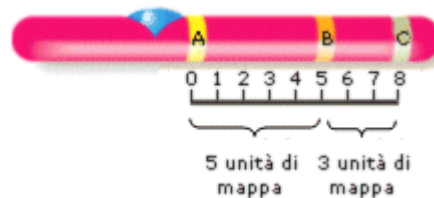
Dalla frequenza di ricombinazione tra due o più geni diversi, misurata in esperimenti di incrocio opportunamente progettati, è possibile dedurre quindi la distanza che intercorre tra loro su ciascun cromosoma e costruire così delle **mappe cromosomiche** o **mappe genetiche**. Il posto di un carattere nella mappa genetica si chiama **locus** (plur. loci).

La distanza tra due geni associati si misura in **Unità di mappa** o **centimorgan** (cM).

Per definizione due geni associati distano 1 cM quando si genera 1 gamete ricombinante ogni 100 gameti (1 ogni 25 meiosi). Normalmente si usa far coincidere la distanza in centimorgan con la percentuale di ricombinazione (1 cM = 1% di ricombinazione).

La distanza di mappa è quindi uguale alla frequenza di ricombinazione scritta come percentuale.

Le percentuali di ricombinazione possono essere utilizzate per individuare le posizioni relative dei geni all'interno dei cromosomi. Così se il gene A e B presentano una frequenza di ricombinazione del 5% (5 unità di mappa), il gene B e C del 3% (3 unità di mappa) ed il gene A e C dell'8% (8 unità di mappa), è evidente che il gene B si trova tra A e C.



La misura sperimentale della frequenza di ricombinazione è più semplice se si reincrociano, come abbiamo appena visto, i diibridi F_1 con gli omozigoti recessivi. In questo modo, poiché l'omozigote recessivo non ha effetti sul processo di ricombinazione presentando tutti alleli recessivi, le frequenze dei genotipi ricombinanti che si ottengono dall'incrocio dipendono solo dal diibrido e sono esattamente uguali alle frequenze con cui ricombinano i gameti del diibrido, frequenze che vogliamo appunto misurare.

La misura sperimentale della frequenza di ricombinazione incrociando due diibridi è comunque possibile anche se risulta più complessa.

Se chiamiamo **p** la probabilità che il diibrido formi gameti parentali (AB e ab) e **q** la probabilità che il diibrido formi gameti ricombinanti (Ab e aB), allora la probabilità di ricombinazione dei gameti che vogliamo calcolare sarà pari a **2q**.

Tenendo ora presente che incrociando i diibridi il quadrato di Punnett ci fornisce i seguenti risultati

	(p) AB	(q) Ab	(q) aB	(p) ab
AB (p)	AA BB (p^2)	AA Bb (pq)	Aa BB (pq)	Aa Bb (p^2)
Ab (q)	AA Bb (pq)	AA bb (q^2)	Aa Bb (q^2)	Aa bb (pq)
aB (q)	Aa BB (pq)	Aa Bb (q^2)	aa BB (q^2)	aa Bb (pq)
ab (p)	Aa Bb (p^2)	Aa bb (pq)	aa Bb (pq)	aa bb (p^2)

Ricordando inoltre che gli omozigoti recessivi (aa bb) sono gli unici individui che presentano un fenotipo differente da tutti gli altri e sono quindi facilmente individuabili, possiamo misurarne la frequenza p^2 . Estraendone poi la radice quadrata possiamo calcolare la frequenza **p** con cui si formano i gameti ab e AB. Ma poiché la somma di tutte le frequenze di formazione dei gameti deve dare l'unità ($p + p + q + q = 2p + 2q = 1$), possiamo calcolare la frequenza di ricombinazione $2q$ sottraendo $2p$ all'unità

$$2q = 1 - 2p$$

Ad esempio, incrociando i diibridi F_1 di Drosophila con corpo grigio ed ali normali, avremmo ottenuto in F_2 un 16.8 % (frequenza = 0,168) di individui, recessivi per entrambi i caratteri, a corpo nero ed ali atrofiche. Si ha quindi $p^2 = 0,168$ e dunque $p = \sqrt{0,168} = 0.41$.

La frequenza di ricombinazione è allora $2q = 1 - 2p = 1 - 2(0.41) = 1 - 0.82 = 0.18$ pari al 18%

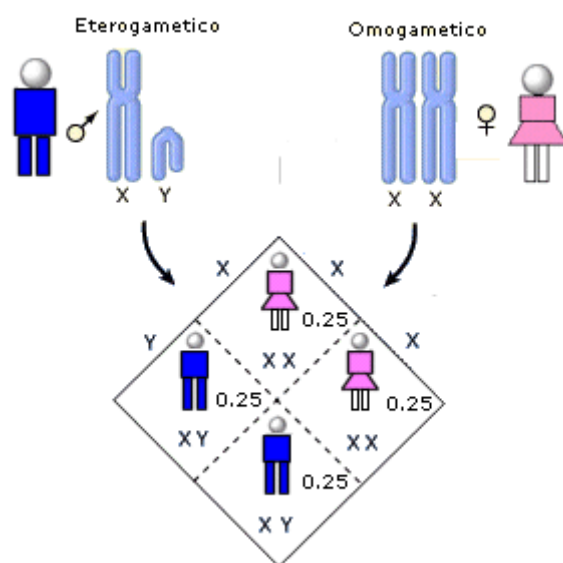
7.4 Determinazione genetica del sesso

Nella specie umana esistono 23 coppie di cromosomi. 22 sono formate da cromosomi uguali (**autosomi**) e una coppia dai cromosomi sessuali. Le femmine possiedono due cromosomi sessuali uguali (due cromosomi X), mentre i maschi hanno due cromosomi sessuali diversi (un cromosoma X ed un cromosoma Y). Possiamo dunque indicare i due sessi come XX (femmina) e XY (maschio). Nella cavalletta e in altri insetti non c'è il cromosoma Y. In questo caso le

femmine sono XX e i maschi XO dove 0 indica l'assenza di un cromosoma. Nelle specie in cui il maschio è XY o XO il sesso maschile è detto **eterogametico** mentre il sesso femminile è detto **omogametico**. Non in tutte le specie, tuttavia, il sesso maschile è eterogametico e il femminile omogametico. Negli uccelli e nelle farfalle il sesso eterogametico è quello femminile.

Al momento della formazione dei gameti la coppia di cromosomi sessuali si separa e in ciascun gamete va un solo cromosoma.

Nella specie umana, le femmine producono solo gameti contenenti un cromosoma X, mentre i maschi producono il 50% di gameti con il cromosoma X ed il 50% con il cromosoma Y. Il sesso viene determinato dai gameti maschili, in quanto solo questi hanno i due cromosomi sessuali diversi (**X** e **Y**). Il sesso di un individuo dipenderà allora da quale dei due cromosomi sessuali è contenuto nello spermatozoo al momento della fecondazione. L'unione di un uovo, che contiene sempre un cromosoma X con uno spermatozoo con cromosoma X produrrà uno zigote dal quale si svilupperà un individuo di sesso femminile. L'unione di un uovo con uno spermatozoo con cromosoma Y produrrà uno zigote XY dal quale si svilupperà un individuo di sesso maschile. L'eredità del sesso, nell'uomo, si comporta, quindi, come un classico carattere mendeliano, per cui la probabilità di ottenere maschi o femmine si può calcolare con un quadrato di Punnett ed è del 50%.



In realtà le cose vanno un po' diversamente. Analisi condotte su alcune popolazioni umane hanno rivelato che alla nascita è presente una eccedenza di maschi (105/106 maschi ogni 100 femmine). L'origine di tale sproporzione non è nota, tuttavia questo "vantaggio" viene poi riassorbito per la più alta mortalità che colpisce il sesso maschile.

Il primo punto critico per i maschi è tra i 15 e i 25 anni, quando lavoro, sport e spostamenti sulle strade provocano numerosi incidenti mortali che riducono il vantaggio iniziale.

Un secondo punto critico si ha tra i 50 e i 60 anni perché sia i tumori, sia le malattie dell'apparato cardiovascolare sono più frequenti nei maschi che nelle femmine.

Di fatto, il traguardo dei 60 anni viene raggiunto dall'82,9% dei maschi contro il 91,5% delle femmine.

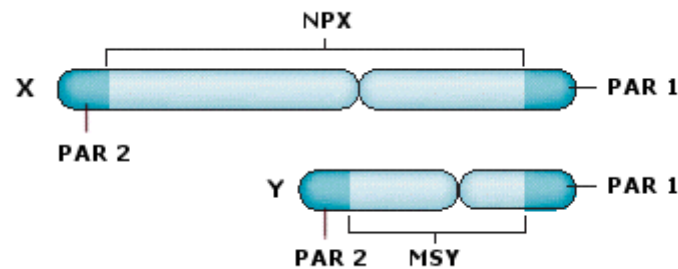
7.5 Eredità legata al sesso

Nell'uomo molti caratteri non sessuali (che non determinano il sesso dell'individuo e le sue caratteristiche sessuali) sono controllati da geni localizzati sui cromosomi sessuali. Tali caratteri si dicono **caratteri legati al sesso (sex linked)**.

Il cromosoma Y è approssimativamente lungo un terzo del cromosoma X quindi la maggior parte dei geni del cromosoma X non hanno il loro corrispondente nel cromosoma Y. Si stima che il cromosoma Y contenga una trentina di geni contro i 1000-1500 del cromosoma X.

Le estremità di entrambi i cromosomi sono le uniche che si appaiano durante la meiosi e che possono ricombinarsi subendo il crossing-over. Tali brevi tratti sono detti **regioni pseudoautosomiche** o **PAR** (pseudoautosomal region). La regione mediana del cromosoma X

è detta *porzione non-pseudoautosomica X* (NPX non-pseudoautosomal portion X), mentre la porzione intermedia del cromosoma Y è detta *porzione maschiospecifica Y* (MSY malespecific portion Y).



Queste due porzioni non subiscono ricombinazioni durante la meiosi e contengono alcuni alleli che non hanno il loro corrispondente nell'altro cromosoma. I caratteri portati nel cromosoma X che non trovano l'equivalente nel cromosoma Y sono detti **X-linked**. I caratteri portati nel cromosoma Y che non trovano l'equivalente nel cromosoma X sono detti **Y-linked**. Si tratta in entrambi i casi di caratteri non sessuali, noti come caratteri legati al sesso o sex-linked, portati in forma aploide e per questo detti anche caratteri **emizigoti**.

I caratteri Y-linked sono molto rari (il cromosoma Y è piccolo e porta pochi caratteri). Più importante è l'eredità X-linked, anche perché tra i caratteri X-linked ve ne sono alcuni responsabili di importanti malattie ereditarie.

Nella specie umana si conoscono, attualmente, circa 20 geni posti sul cromosoma X ed assenti nel cromosoma Y, responsabili di alterazioni legate al sesso, tra cui le più note sono il *daltonismo* e l'*emofilia*.

Il **daltonismo** consiste nell'incapacità di distinguere alcuni colori (tipicamente rosso e verde). Il termine daltonismo deriva dal nome del chimico e fisico inglese John Dalton, che studiò su se stesso questo difetto. L'**emofilia** è un insieme di gravi anomalie responsabili di un forte ritardo nella coagulazione del sangue che provocano una relativa facilità alle emorragie, spesso inarrestabili. Anche una lieve ferita cutanea può così risultare fatale all'emofiliaco.

Entrambi questi difetti genetici sono portati da un allele recessivo che si trova solo sul cromosoma X. Nelle femmine l'effetto recessivo di un allele X-linked portatore di difetti genetici può essere mascherato dall'allele dominante sano situato sull'altro cromosoma X. Nei maschi, invece, gli alleli X-linked recessivi possono manifestare i loro effetti perché non è presente un altro cromosoma X con geni dominanti che li mascherino e sul cromosoma Y manca l'allele.

Queste malattie si manifestano quindi quasi esclusivamente nei maschi, mentre le femmine sono in genere portatrici sane (eterozigoti). Vedremo che la tipica trasmissione ereditaria di queste malattie genetiche è per via materna, da madre portatrice sana a figlio maschio. I maschi malati generano invece femmine portatrici sane che a loro volta possono generare maschi malati con una trasmissione a "zigzag" tipica dei caratteri X-linked.

Prendiamo ad esempio l'emofilia causata da un gene recessivo (e) legato al sesso e portato dal cromosoma X (con E allele dominante sano).

Una femmina può presentare tre genotipi:

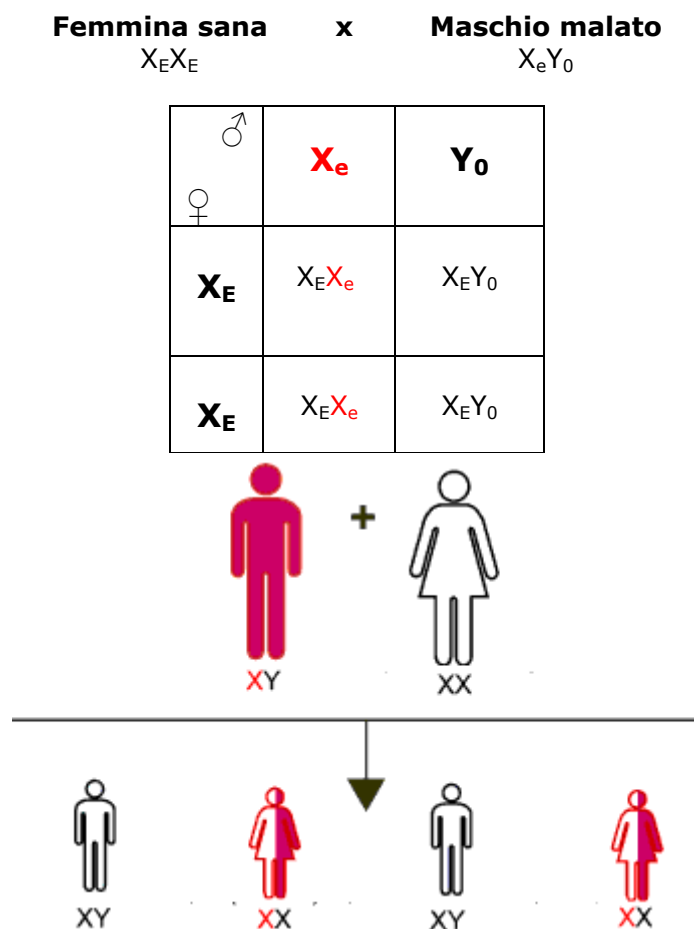
Genotipo	Fenotipo
$X_E X_E$ omozigote dominante	sana
$X_E X_e$ eterozigote	Portatrice sana
$X_e X_e$ omozigote recessivo	Malata

Anche se, come abbiamo già detto, le donne malate sono rarissime

Un maschio che porta il carattere in emizigosi e non possiede l'allele sul cromosoma Y può presentare solo due genotipi:

Genotipo	Fenotipo
$X_E Y_0$ omozigote dominante	sano
$X_e Y_0$ eterozigote	Malato

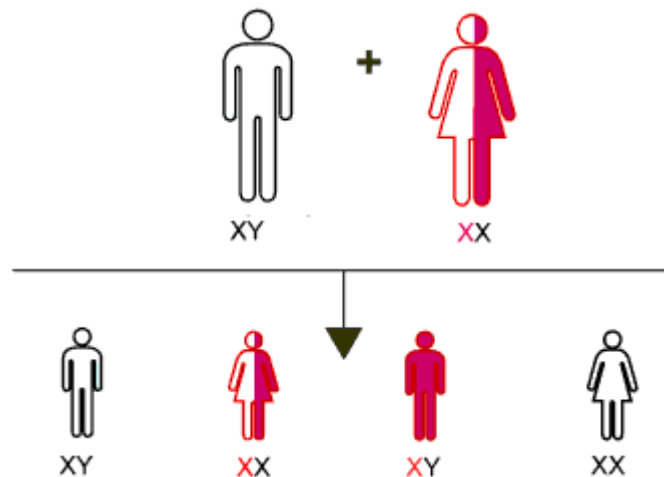
Vediamo ora quali sono gli incroci che possono avvenire.



Se nasce una femmina sarà sicuramente portatrice sana (riceve il cromosoma X_e malato dal padre). Se nasce un maschio sarà sicuramente sano (i maschi non possono mai ricevere un difetto X-linked dal padre poiché dal padre ricevono sempre il cromosoma Y che non presenta il difetto genetico). Dunque i maschi malati trasmettono la malattia in forma latente alle figlie portatrici sane.

Femmina portatrice **x** **Maschio sano**
 $X_E X_e$ $X_E Y_0$

♂	X_E	Y₀
♀	X_E	
	X _E X _E	X _E Y ₀
	X_e	X _e Y ₀



Se nasce una femmina avrà il 50% di probabilità di essere sana (se riceve dalla madre l'allele dominante) ed il 50% di probabilità di essere portatrice sana (se riceve dalla madre l'allele recessivo).

Se nasce un maschio avrà il 50% di probabilità di essere sano (se riceve dalla madre l'allele dominante) ed il 50% di probabilità di essere malato (se riceve dalla madre l'allele recessivo). I maschi ereditano dunque la malattia dalla madre portatrice sana (trasmissione per via materna, ma hanno solo 1 probabilità su 2 di nascere malati)

Affinché nascano femmine malate è necessario un improbabile incrocio tra una femmina portatrice sana ed un maschio malato.

Femmina portatrice x Maschio malato
X_EX_e X_eY₀

♂	X_e	Y₀
♀		
	X _E X _e	X _E Y ₀
	X_e	X _e Y ₀

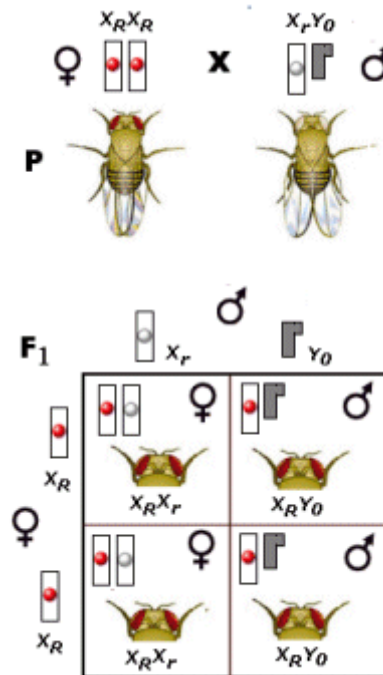
Se nasce una femmina avrà il 50% di probabilità di essere portatrice sana (se riceve dalla madre l'allele dominante) ed il 50% di probabilità di essere malata (se riceve dalla madre l'allele recessivo).

Se nasce un maschio avrà il 50% di probabilità di essere sano (se riceve dalla madre l'allele dominante) ed il 50% di probabilità di essere malato (se riceve dalla madre l'allele recessivo).

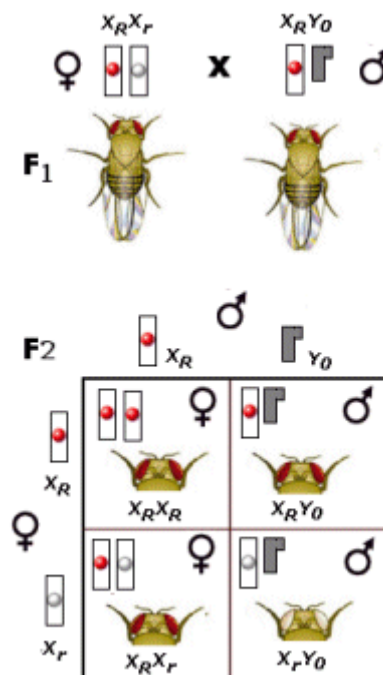
L'eredità X-linked fu scoperta per la prima volta da Morgan il quale notò che alcuni caratteri di *Drosophila* venivano ereditati con modalità diverse a seconda che provenissero dal padre o dalla madre. Un esempio classico è quello che riguarda il colore degli occhi bianco o rosso in *Drosophila melanogaster* che permise tra l'altro a Morgan di dimostrare la teoria cromosomica dell'eredità (il carattere colore degli occhi doveva necessariamente essere portato dai cromosomi sessuali).

Morgan aveva osservato la comparsa di un mutante ad occhi bianchi (allele r) che risultava recessivo rispetto al carattere selvatico ad occhi rossi (allele R).

Incrociando femmine di *Drosophila* selvatiche ad occhi rossi con maschi mutanti ad occhi bianchi, Morgan ottenne in F_1 il 100% di progenie ad occhi rossi.



Incrociando gli ibridi F_1 Morgan ottenne in F_2 3/4 degli individui ad occhi rossi e 1/4 di individui ad occhi bianchi, solo in apparenza ancora in accordo con le regole di Mendel. Infatti mentre le femmine erano tutte ad occhi rossi, i maschi erano per metà ad occhi rossi e per metà ad occhi bianchi.



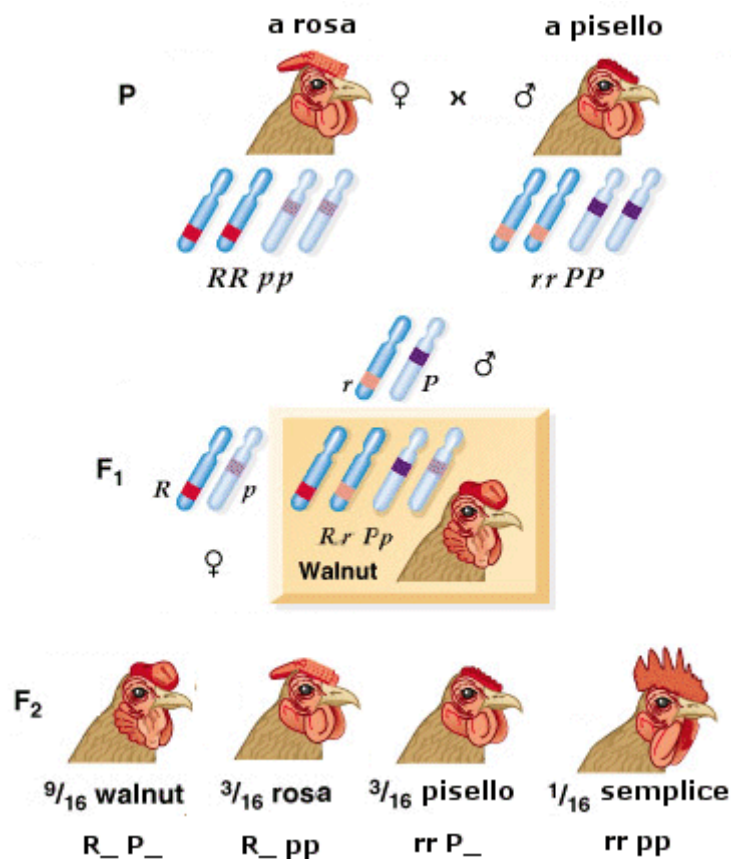
Queste anomalie si potevano spiegare ammettendo che il gene per il colore dell'occhio fosse localizzato sul cromosoma sessuale **X** e che sul cromosoma sessuale **Y** del maschio non vi fosse alcun gene normale corrispondente.

7.6 Interazione tra geni

In alcuni casi un gene può interagire con altri geni per controllare la manifestazione di un unico carattere. L'esperimento classico che ha dimostrato l'esistenza di un'interazione tra geni diversi si deve a Bateson e Punnett (1905) in cui vennero incrociati polli che differivano per la forma della cresta (*cresta a rosa* x *cresta a pisello*). In F_1 si ottennero un 100% di polli con *cresta a noce* (o Walnut), un fenotipo nuovo. Poteva trattarsi di un semplice caso di codominanza, con la comparsa di un carattere intermedio. Ma incrociando gli ibridi F_1 si ottennero polli con 4 tipi di creste, con una distribuzione di frequenza 9:3:3:1 (9 a noce, 3 a rosa, 3 a pisello e 1 con cresta semplice).

La distribuzione 9:3:3:1 suggeriva che il carattere '*forma della cresta*' fosse controllato non da uno, ma due geni secondo il seguente schema

- L'allele *R* da solo determina la cresta a rosa ed è dominante su *r*
- l'allele *P* da solo determina la cresta a pisello ed è dominante su *p*
- *R* e *P* sono codominanti e la loro presenza congiunta determina la comparsa della cresta a noce
- *rrpp* determina la comparsa della cresta semplice.



Nella scrittura $R_$ il trattino significa che il genotipo può essere indifferentemente RR o Rr . Nella scrittura $P_$ il trattino significa che il genotipo può essere indifferentemente PP o Pp .

Sono stati classificati i seguenti tipi di interazioni tra geni: *epistasi*, *soppressione*, *complementazione* e *duplicazione genica*.

- L'epistasi è un fenomeno di dominanza intergenica, in cui un gene si manifesta "coprendo" la manifestazione di un altro gene che rimane inespresso
- La soppressione è un fenomeno di inibizione intergenica in cui un gene blocca l'allele dominante di un altro gene permettendo l'espressione dell'allele recessivo

- La complementazione è un fenomeno di codominanza intergenica in cui due geni, presenti insieme con una particolare combinazione allelica, producono un fenotipo diverso.
- La duplicazione genica è un fenomeno di interazione in cui due geni identici controllano un medesimo carattere.

Il risultato di queste interazioni porta in genere ad un cambiamento caratteristico nel rapporto fenotipico (**rapporti mendeliani atipici**) in F_2 rispetto a quello atteso in assenza di interazioni (9:3:3:1).

Si tenga presente che la classificazione delle interazioni geniche viene spesso proposta con criteri diversi, generando non poca confusione.

7.6.1 Epistasi

L'**epistasi** (leggi *epistasi*) è un fenomeno di interazione definito per la prima volta dallo stesso Bateson (1909). Bateson descrisse il fenomeno essenzialmente come una estensione del concetto di dominanza al caso di alleli appartenenti a geni diversi. Il termine viene usato ancor oggi in senso stretto per indicare un effetto di copertura o mascheramento degli effetti di un gene detto **ipostatico** (letteralmente "che sta sotto") da parte di un altro **epistatico** (letteralmente "che sta sopra"). Il gene epistatico si manifesta al posto di quello ipostatico. Si tenga tuttavia presente che successivamente il termine *epistasi* ha allargato il suo significato fino a descrivere in senso lato qualsiasi interazione tra geni diversi che conduca ad una variazione di un unico carattere fenotipico. In molti testi di genetica il termine "interazione epistatica" viene utilizzato come sinonimo di "interazione genica" ad indicare quindi qualsiasi tipo di effetto di un gene su di un altro, contribuendo non poco ad aumentare la confusione su questo argomento.

Noi useremo qui l'accezione più ristretta.

Si riconoscono due tipi di epistasi: dominante e recessiva

Nell'**epistasi recessiva** l'agente epistatico è un gene in forma omozigote recessiva.

Il rapporto fenotipico caratteristico incrociando i diibridi è **9:3:4**

Se ne ha un esempio nel colore del mantello del topo con i due geni *aguti* ed *albino*.

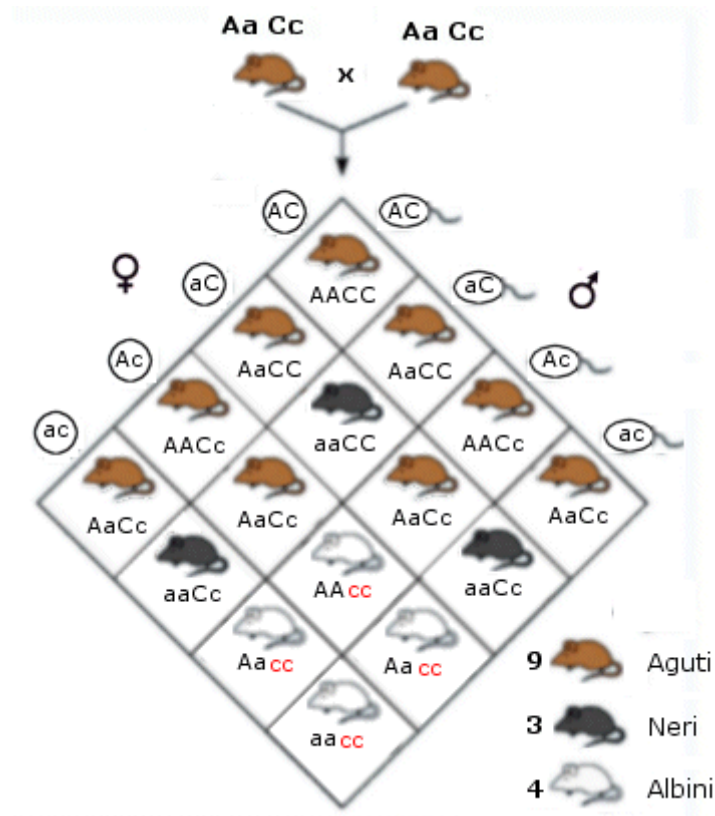
Il gene **aguti** presenta i due alleli

A (dominante) = colore grigio (aguti) **a** (recessivo) = colore nero

Il gene **albino** presenta i due alleli

C (dominante) = cromogeno (presenza di colore) **c** (recessivo) = assenza di colore

Il genotipo omozigote recessivo *cc* produce albinismo ed è epistatico verso *AA*, *Aa* e *aa* (ipostatici) mascherandone gli effetti. Se incrociamo due diibridi grigi (aguti) *AaCc* otteniamo infatti



Genotipo	Fenotipo	Interazione genica
9 A_C_	aguti	Il gene dominante C_ (cromogeno) permette al colore aguti (A_) di manifestarsi
3 A_cc	bianco	Il gene epistatico recessivo cc (assenza di colore) si manifesta, mascherando il colore aguti (A_)
3 aa C_	nero	Il gene dominante C_ (cromogeno) permette al colore grigio (aa) di manifestarsi
1 aa cc	bianco	Il gene epistatico recessivo cc (assenza di colore) si manifesta, mascherando il colore grigio (aa)

Nell'**epistasi dominante** il fattore epistatico è un gene dominante anche in singola dose. Affinché si abbia cioè l'effetto di mascheramento è sufficiente la presenza anche di un solo allele dominante.

Il rapporto fenotipico caratteristico incrociando i diibridi è **12:3:1**.

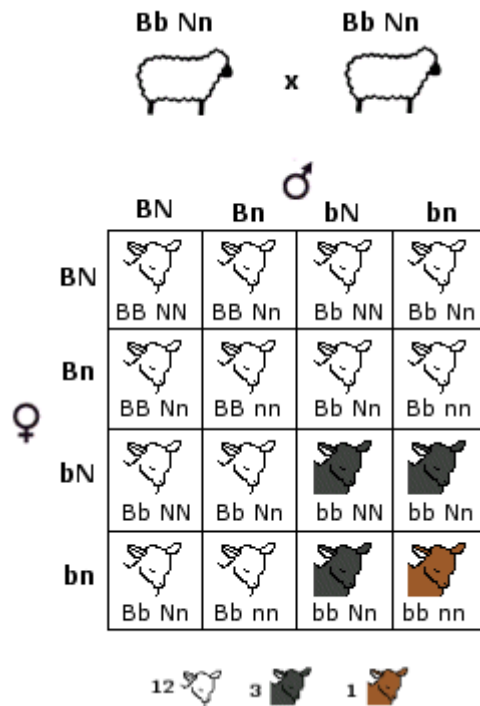
Ne abbiamo un esempio nel colore bianco, nero e marrone del mantello delle pecore.

Anche in questo caso abbiamo due geni, uno che esprime per assenza/presenza di colore e l'altro che esprime per il colore nero/marrone. In questo caso l'allele assenza di colore (B = bianco) è dominante ed epistatico.

B (dominante) = assenza di colore, bianco (epistatico) **b** (recessivo) = presenza di colore

N (dominante) = colore nero **n** (recessivo) = colore marrone

L'allele B produce il colore bianco (assenza di colore) ed è epistatico verso NN, Nn e nn (ipostatici) mascherandone gli effetti. Il colore nero (genotipi NN ed Nn) e marrone (genotipo nn) si possono manifestare solo in assenza dell'allele B e quindi quando il gene epistatico è in forma omozigote recessiva (bb). Se incrociamo due diibridi bianchi BbNn otteniamo infatti



Genotipo	Fenotipo	Interazione genica
9 B_N_	bianco	L'allele B dominante epistatico bianco maschera il colore nero (N_)
3 B_nn	bianco	L'allele B dominante epistatico bianco maschera il colore marrone (nn)
3 bb N_	nero	Il gene recessivo bb (cromogeno) permette al nero (N_) di manifestarsi
1 bb nn	marrone	Il gene recessivo bb (cromogeno) permette al marrone (nn) di manifestarsi

Oltre all'epistasi dominante e all'epistasi recessiva, alcuni autori classificano altre tre tipi di epistasi:

- doppia dominante
- doppia recessiva
- doppia dominante-recessiva.

Si tratta di interazioni che possono essere interpretate anche come non epistatiche e di cui parleremo in seguito.

7.6.2 Complementazione

L'**interazione di geni complementari (o complementazione)** è un fenomeno di interazione fra geni diversi che manifestano la loro azione solo quando sono presenti insieme, generando un fenotipo differente rispetto a quello che generano quando si presentano da soli.

Si riconoscono due tipi di complementazione: dominante e recessiva.

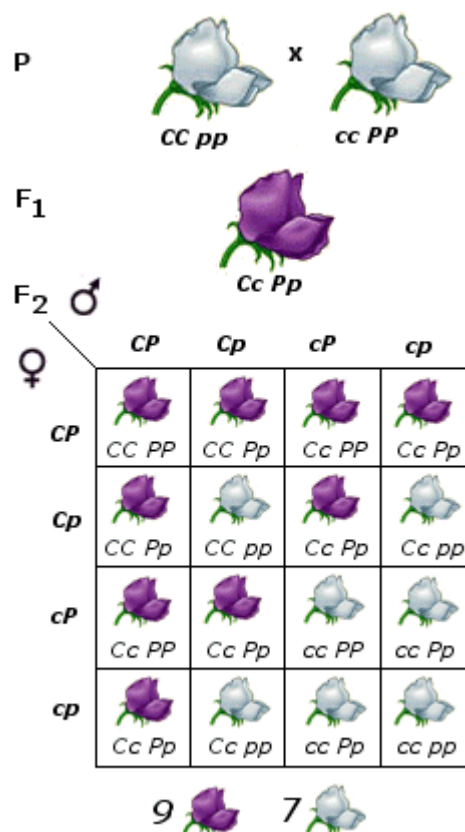
Nell'**interazione di geni complementari dominanti (o epistasi doppia recessiva)** due geni manifestano un fenotipo diverso quando sono contemporaneamente presenti entrambi almeno con un allele dominante per gene. I rapporti fenotipici caratteristici incrociando i diibridi sono due: **9:7** e **9:6:1**.

Un esempio classico di complementazione dominante è quella che abbiamo già analizzato per la forma della cresta dei polli studiata da Bateson e che mantiene il classico rapporto 9:3:3:1, ma con quattro fenotipi differenti.

Genotipo	Fenotipo	Interazione genica
9 $R_P_$	a noce (Walnut)	La presenza del gene dominante $R_$ e del gene dominante $P_$ genera la cresta a noce
3 R_pp	a rosa	La presenza del gene dominante $R_$ e l'assenza del gene dominante $P_$ genera la cresta a rosa
3 $rr P_$	a pisello	L'assenza del gene dominante $R_$ e la presenza del gene dominante $P_$ genera la cresta a pisello
1 $rr pp$	semplice	L'assenza del gene dominante $R_$ e del gene dominante $P_$ genera la cresta semplice

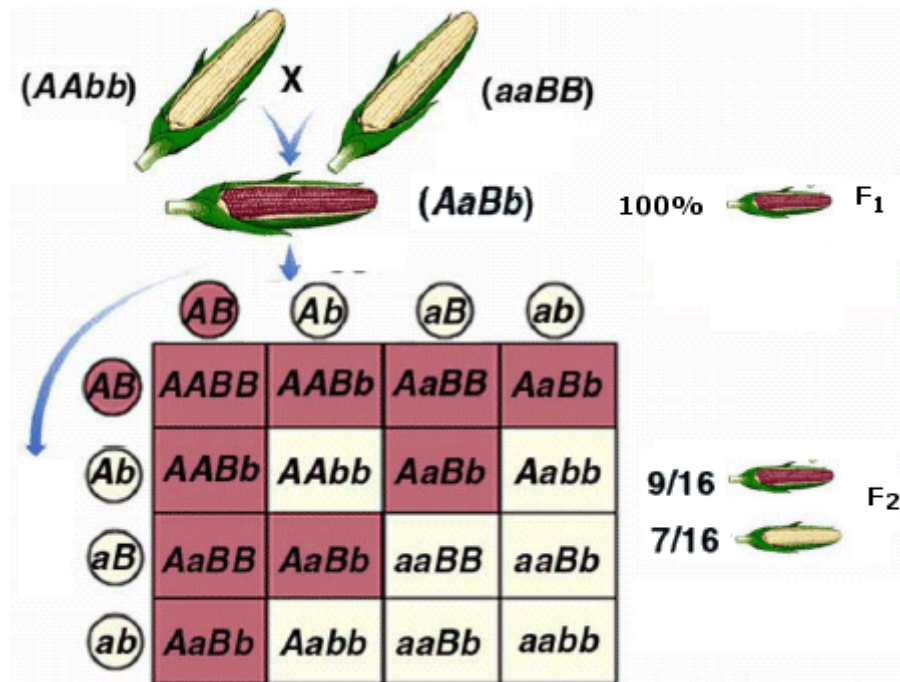
A Bateson si devono anche gli incroci su Pisello odoroso (*Lathyrus odoratus*), che esemplificano il rapporto fenotipico 9:7.

Nel pisello odoroso la contemporanea presenza dell'allele C e P produce fiori violetti, mentre i genotipi C_pp , $ccP_$, e $ccpp$ sono bianchi.



Genotipo	Fenotipo	Interazione genica
9 $C_P_$	Fiori colorati: produzione di antocianina	Enzimi C e P presenti
3 C_pp	Fiori bianchi: assenza di antocianina	Enzima P assente
3 $ccP_$	Fiori bianchi: assenza di antocianina	Enzima C assente
1 $ccpp$	Fiori bianchi: assenza di antocianina	Enzimi C e P assenti

La medesima interazione genica legata alla sintesi di antocianina è responsabile anche della colorazione dei semi del mais



Il fenomeno prende anche il nome di **epistasi doppia recessiva** poiché ogni volta che è presente uno dei due geni in forma omozigote recessiva non è presente il colore. Si potrebbe dunque interpretare il fenomeno come un'azione epistatica del genotipo cc su P_ e del genotipo pp su P_. In realtà si ammette che la formazione del pigmento richieda la presenza contemporanea dell'allele C e P e si spiega attribuendo ad ognuno dei due geni l'azione di sintesi su elementi di una catena enzimatica che partendo da un composto incolore porta ad uno colorato.

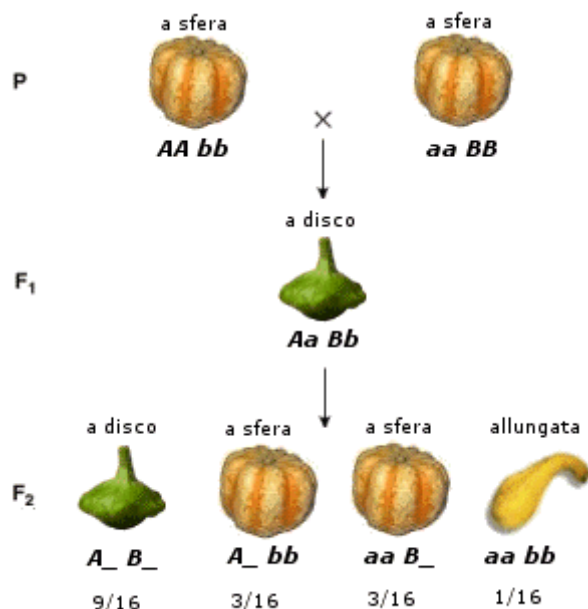


L'azione di geni complementari può manifestarsi anche con un **rapporto fenotipico 9:6:1**.

Nella zuccina (*Cucurbita pepo*), ad esempio, la forma è controllata da due geni.

Il gene dominante A_ ed il gene dominante B_, presenti singolarmente, determinano la forma a sfera.

Il gene dominante A_ ed il gene dominante B_, presenti insieme, determinano la forma a disco. Il gene recessivo aa ed il gene recessivo bb, presenti insieme determinano la forma allungata.



Genotipo	Fenotipo	Interazione genica
9 $A_ B_$	Forma a disco	La presenza del gene dominante $A_$ e del gene dominante $B_$ genera la forma a disco
3 $A_ bb$	Forma a sfera	La presenza del gene dominante $A_$ e l'assenza del gene dominante $B_$ genera la forma a sfera
3 $aa B_$	Forma a sfera	L'assenza del gene dominante $A_$ e la presenza del gene dominante $B_$ genera la forma a sfera
1 $aa\ bb$	Forma allungata	L'assenza del gene dominante $A_$ e del gene dominante $B_$ genera la forma allungata

7.6.3 Duplicazione genica

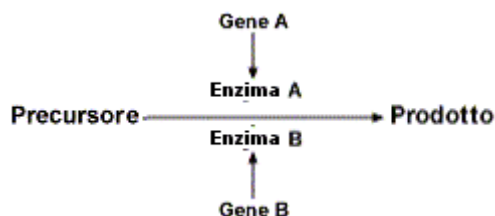
La **duplicazione genica** (o **epistasi doppia dominante** o **interazione di geni complementari recessivi**) è un fenomeno di interazione fra geni diversi che si comportano allo stesso modo, producendo la medesima azione (geni duplicati).

Il rapporto fenotipico caratteristico incrociando i diibridi è **15:1**.

Il colore della cariosside del frumento, ad esempio, è controllato da due geni duplicati cromogeni che, in forma dominante, manifestano il medesimo effetto inducendo entrambi la comparsa del pigmento.

Si ipotizza che il pigmento venga sintetizzato da un unico precursore grazie alla presenza di un enzima A o un enzima B o entrambi indifferentemente. La cariosside risulterà pertanto colorata se i due geni A e B che codificano per i rispettivi enzimi, si presenteranno, separatamente o contemporaneamente in forma dominante (A_bb , $aaB_$, $A_B_$). La cariosside sarà priva di colore solo se i due geni si presenteranno entrambi in forma recessiva ($aabb$).

Genotipo	fenotipo	Attività enzimatica
9 $A_ B_$	Cariosside colorata	Entrambi gli enzimi funzionali
3 $A_ bb$	Cariosside colorata	Solo enzima A funzionale
3 $aa B_$	Cariosside colorata	Solo enzima B funzionale
1 $aabb$	Cariosside priva di colore	Nessun enzima funzionale



Questo tipo di interazione viene anche interpretata come una **interazione di geni complementari recessivi** se si considera l'assenza di colore un effetto della compresenza dei due geni allo stato omozigote recessivo (aabb).

Qualche autore la classifica anche come una **epistasi doppia dominante** poiché il gene dominante A_ può considerarsi epistatico su bb ed il gene dominante B_ può considerarsi epistatico su aa.

7.6.4 Soppressione genica

La **soppressione genica** è un fenomeno di interazione fra geni diversi in cui un gene in forma dominante (A_), detto **gene soppressore**, inattiva un altro gene dominante (B_) permettendo al suo eventuale allele recessivo (nel caso sia presente in forma eterozigote Bb) di esprimersi. Si noti la differenza rispetto ad una epistasi dominante in cui il gene epistatico non permette alla forma recessiva dell'altro gene di esprimersi, ma si esprime al suo posto.

Il rapporto fenotipico caratteristico incrociando i diibridi è **13:3**.

La sintesi della malvidina nella Primula, ad esempio, è controllata da due geni: un gene dominante K_ che codifica per la sintesi della malvidina ed il gene soppressore dominante D_ che sopprime K e permette, se presente, la manifestazione del suo allele recessivo k (nessuna sintesi di malvidina).

Genotipo	Fenotipo	Interazione genica
9 K_D_	Malvidina non sintetizzata	L'allele D è presente e l'allele k recessivo può esprimersi
3 K_dd	Malvidina sintetizzata	L'allele D è assente e l'allele K dominante può esprimersi
3 kkD_	Malvidina non sintetizzata	L'allele D è presente e l'allele k recessivo può esprimersi
1 kkdd	Malvidina non sintetizzata	L'allele D è assente e l'allele K dominante potrebbe esprimersi ma non è presente

Il rapporto fenotipico 13:3 può essere anche interpretato come una **epistasi doppia dominante-recessiva**, con il gene dominante A_ del primo locus (epistatico su B_ e bb) che genera lo stesso fenotipo del gene recessivo bb del secondo locus (epistatico su aa) e viceversa

Prendiamo il seguente esempio

Locus 1: A bianco; a colore.

Locus 2: B colore; b bianco.

Genotipo	Fenotipo	Interazione genica
9 A_B_	Bianco	L'allele A è presente ed essendo epistatico su B_ si manifesta
3 A_bb	Bianco	L'allele A è presente ed essendo epistatico su bb si manifesta
3 aaB_	Colorato	L'allele A è assente ed i geni B_ ed aa si manifestano
1 aabb	Bianco	il gene bb è epistatico su aa e si manifesta

Interazione genica	9	3	3	1	Rapporto fenotipico
	A-B-	A-bb	aaB-	aabb	
Rapporto inalterato (4 fenotipi diversi)	9	3	3	1	9:3:3:1
Epistasi recessiva	9	3	4		9:3:4
Epistasi dominante	12		3	1	12:3:1
Complementazione	9	7			9:7
Duplicazione genica	15			1	15:1
Soppressione	9	3	4		13:3

7.7 La bontà dell'adattamento: il test del chi-quadrato

Come abbiamo già avuto modo di dire, quando si eseguono degli incroci si osservano delle distribuzioni di frequenza che non coincidono quasi mai con le probabilità attese. La probabilità che ci siano i 9/16 della progenie di un incrocio diibrido che esprimono il fenotipo dominante in un campione di progenie di 16 individui è veramente scarsa. Nei piccoli campioni le fluttuazioni dovute al caso delle frequenze osservate rispetto a quelle attese possono essere molto vistose.

Abbiamo visto come più grande è la dimensione del campione e maggiore è la probabilità che gli effetti del caso producano piccole deviazioni sulle frequenze osservate rispetto a quelle attese. Tuttavia le fluttuazioni casuali delle frequenze sono ineliminabili e pertanto nella pratica sperimentale vi è la necessità di verificare se esiste accordo tra una distribuzione osservata e la corrispondente distribuzione attesa o teorica.

Si tenga inoltre presente che le frequenze osservate potrebbero 'adattarsi' a distribuzioni teoriche diverse. Se ad esempio in F_2 otteniamo 53 individui con fenotipo A e 14 con fenotipo B, possiamo domandarci se siamo in presenza di un classico rapporto 3:1 con il carattere controllato da un unico gene o di una interazione genica con un rapporto 13:3 (soppressione genica).

È dunque possibile saggiare l'effetto del caso sulle frequenze osservate usando un metodo statistico chiamato **test chi-quadrato** (o test chi-quadro o test di Pearson).

Il test chi-quadrato valuta se le differenze rispetto al rapporto atteso sono dovute al caso o se sono differenze reali. Il test verifica in definitiva se le frequenze osservate si accordano (adattano) o meno con quelle attese ed è perciò definito un **test per la bontà dell'adattamento** (*goodness of fit*).

Il χ^2 si calcola facendo la sommatoria dei quadrati delle differenze tra le frequenze osservate e quelle attese (teoriche), ciascun quadrato diviso per la frequenza attesa (teorica).

$$\chi^2 = \sum \frac{(\text{Osservato} - \text{Previsto})^2}{\text{Previsto}}$$

Ad esempio, in uno dei suoi incroci diibridi per il colore e la forma del seme, Mendel ottiene 556 individui di cui:

315 Gialli e lisci 101 Gialli e rugosi 108 Verdi e lisci 32 verdi e rugosi

Le frequenze attese (teoriche) sulla base del rapporto fenotipico 9:3:3:1 sono

Gialli e lisci = 9/16 di 556 = 312,75

Gialli e rugosi = 3/16 di 556 = 104,25

Verdi e lisci = 3/16 di 556 = 104,25

Verdi e rugosi = 1/16 di 556 = 34,75

Calcoliamo χ^2

$$\chi^2 = \frac{315 - 312,75}{312,75} + \frac{101 - 104,25}{104,25} + \frac{108 - 104,25}{104,25} + \frac{32 - 34,75}{34,75} = 0,47$$

E' ovvio come piccole differenze tra frequenze osservate ed attese possano essere ritenute accidentali e quindi non siano tali da negare un sostanziale accordo tra osservato ed atteso, mentre differenze grandi lascino supporre che non siano state ottenute per caso, ma che siano presenti fattori differenti da quelli ipotizzati. Dunque valori elevati di χ^2 indicano grandi differenze tra valori osservati e valori attesi e sono un indizio di una distribuzione realmente diversa da quella attesa.

Il problema ora è decidere quando il valore di χ^2 calcolato è talmente grande da farci rifiutare la sostanziale identità tra la distribuzione osservata e quella attesa.

L'ipotesi che le differenze osservate siano dovute a semplici fluttuazioni casuali e che siano talmente piccole rispetto alle frequenze attese, da essere trascurabili è nota come **ipotesi nulla** e viene indicata con **H₀**. L'ipotesi alternativa, che le differenze siano significative e che quindi la distribuzione osservata sia realmente diversa da quella attesa, viene indicata con **H₁**.

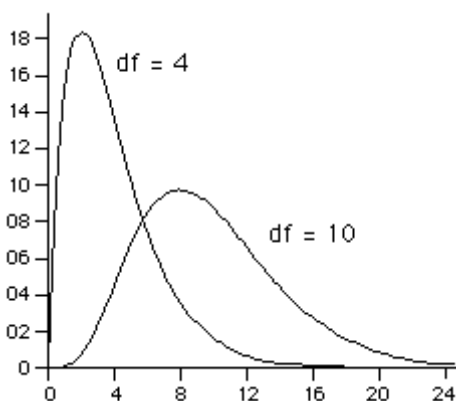
Dobbiamo allora valutare se il valore calcolato di χ^2 sia abbastanza piccolo da farci accettare l'ipotesi nulla: le variazioni sono casuali e trascurabili e la distribuzione osservata si accorda con quella teorica.

Il problema è che i valori di χ^2 dipendono dai gradi di libertà considerati e sono tanto più elevati quanto più numerosi sono i gradi di libertà.

I **gradi di libertà** (**df** = degrees of freedom) esprimono il numero di dati effettivamente disponibili per valutare la quantità d'informazione ottenuta. Infatti quando un dato non è indipendente, l'informazione che esso fornisce è già contenuta implicitamente negli altri ed è possibile effettuare i calcoli utilizzando soltanto il **numero di osservazioni indipendenti** (che rappresentano appunto i gradi di libertà). In generale i gradi di libertà sono pari al numero di classi studiate meno uno.

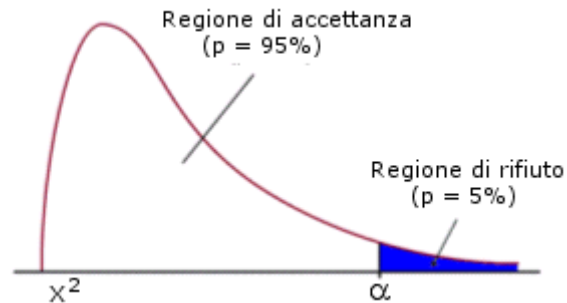
Nell'esempio precedente i gradi di libertà sono pari a 3 (4 classi osservate (4 fenotipi) meno 1). Infatti, conoscendo il numero totale di individui ottenuti dall'incrocio (536) ed il numero di individui che costituiscono tre dei quattro fenotipi (osservazioni indipendenti), il numero di individui che costituiscono il quarto fenotipo resta univocamente determinato (individui totali meno individui dei primi tre fenotipi).

I valori di χ^2 si distribuiscono dunque in funzione del numero dei gradi di libertà. Si vedano ad esempio le seguenti due curve che rappresentano la distribuzione di frequenza di χ^2 per 4 e 10 gradi di libertà (in ascissa i valori di χ^2 ed in ordinata la probabilità che χ^2 assuma quel particolare valore).



Per valutare dunque il valore calcolato di χ^2 dobbiamo confrontarlo con i valori che esso può assumere, dato un certo numero di gradi di libertà. Presa dunque in considerazione la curva di χ^2 relativa al numero di gradi di libertà che stiamo considerando, possiamo verificare che il

valore di χ^2 calcolato non cada nella parte finale della curva (coda) dove sono presenti valori troppo elevati. In genere si divide la curva in due regioni: quella a sinistra (**regione di accettazione**) con una probabilità del 95% che χ^2 cada al suo interno e quella a destra (**regione di rifiuto**) con una probabilità del 5% che χ^2 cada al suo interno. Il valore di χ^2 che separa queste due regioni è detto **valore critico α** .



In pratica non è necessario utilizzare queste curve. È sufficiente consultare delle tabelle che contengono i valori critici (normalmente per il 5%) di χ^2 per i diversi gradi di libertà e confrontare il valore di χ^2 calcolato con il valore critico. Se il valore di χ^2 calcolato è inferiore al valore critico (cade nella regione di accettazione), allora possiamo considerarlo abbastanza piccolo da accettare l'ipotesi nulla.

gradi di libertà	Valori critici (α)		
	10%	5%	1%
1	2.71	3.84	6.63
2	4.61	5.99	9.21
3	6.25	7.81	11.34
4	7.78	9.49	13.28
5	9.24	11.07	15.00

Dunque, se ora confrontiamo il valore di χ^2 che abbiamo calcolato nell'esempio precedente ($\chi^2 = 0,47$) con il valore critico per il 5% di probabilità e per 3 gradi di libertà (7,81) troviamo che il χ^2 calcolato è inferiore al valore critico ($0,47 < 7,81$). Possiamo accettare l'ipotesi nulla ed affermare che le frequenze osservate rappresentano una distribuzione 9:3:3:1 a meno di fluttuazioni da ritenersi casuali.

7.8 Penetranza ed espressività

Non sempre un carattere mendeliano si presenta con rapporti fenotipici caratteristici (tipici o atipici). In alcuni casi le interazioni geniche e quelle ambientali agiscono in modo imprevisto e non ancora chiarito. I concetti di penetranza ed espressività cercano allora di descrivere e quantificare gli effetti dell'ambiente e di altri geni sui caratteri ereditari, che non siamo in grado di imputare direttamente ad una causa specifica.

La **penetranza** indica in quale percentuale un certo genotipo esprime, in seno ad una popolazione, il suo fenotipo caratteristico. La penetranza è completa (100%) quando il fenotipo si esprime ogni volta che è presente il corrispondente genotipo. La penetranza è incompleta o ridotta quando il fenotipo si esprime solo in una frazione degli individui portatori del genotipo.

Ad esempio, in alcune malattie genetiche la penetranza incompleta di un carattere si manifesta con una proporzione di figli affetti minore di quella attesa dalle proporzioni mendeliane. La sindrome dell'X Fragile ha ad esempio una penetranza del 80% (8 individui su 10 con il genotipo della malattia esprimono il fenotipo).

L'**espressività** indica l'intensità della manifestazione fenotipica di un dato gene, considerata rispetto al fenotipo normale e misurata in termini qualitativi o quantitativi. L'espressività di un

gene dipende da numerosi fattori, tra cui l'età ed il sesso del soggetto, gli effetti ambientali e quelli dovuti all'espressione di altri geni. Ad esempio certe malattie genetiche, come la sindrome dell'X Fragile, possono manifestarsi in individui diversi in forma più o meno grave e presentano dunque una espressività variabile.

7.9 Pleiotropia

La pleiotropia è il fenomeno per il quale un unico gene controlla più di un carattere all'interno del medesimo individuo. I caratteri controllati da un gene pleiotropico risultano tra loro strettamente correlati.

Nella maggior parte dei casi il gene pleiotropico codifica per una proteina enzimatica che sta a monte di diverse vie metaboliche o per una proteina strutturale che viene utilizzata nella costruzione di tessuti ed organi diversi.

Un interessante esempio di pleiotropia è fornito da un gene dominante epistatico W_{-} che nei gatti determina il colore bianco del mantello, occhi blu e sordità. Il gene W_{-} è epistatico su tutti gli altri geni che controllano il colore del mantello. Alcuni gatti bianchi hanno un occhio blu ed uno giallo-arancio. In questo caso sono sordi soltanto dall'orecchio che si trova dalla stessa parte dell'occhio blu.

La melanina, il pigmento che determina la colorazione del mantello è prodotta da cellule note come melanociti. La coclea dell'orecchio contiene una fascia di melanociti che funge da mediatore per la trasmissione dell'impulso nervoso sonoro al cervello.

Si tenga tuttavia presente che il colore bianco dei gatti può essere prodotto geneticamente in tre modi diversi. Può essere bianco (W_{-}), albino (cc) o macchiato (S_{-} , *spotted*) con una grande macchia bianca che copre tutto il corpo. I gatti albinici hanno però occhi e pelle rosa

7.10 Eredità poligenica: caratteri non mendeliani a variabilità continua

La maggior parte dei caratteri degli individui sono caratteri non mendeliani e manifestano pertanto una variabilità *continua* e non *discreta*. Si tratta in genere di caratteri tipicamente *quantitativi* come il peso, l'altezza, la forma del naso etc. Anche quando si tratta di caratteri numerabili (numero dei capelli) il numero delle classi numeriche è così elevato che la variabilità può comunque essere considerata continua.

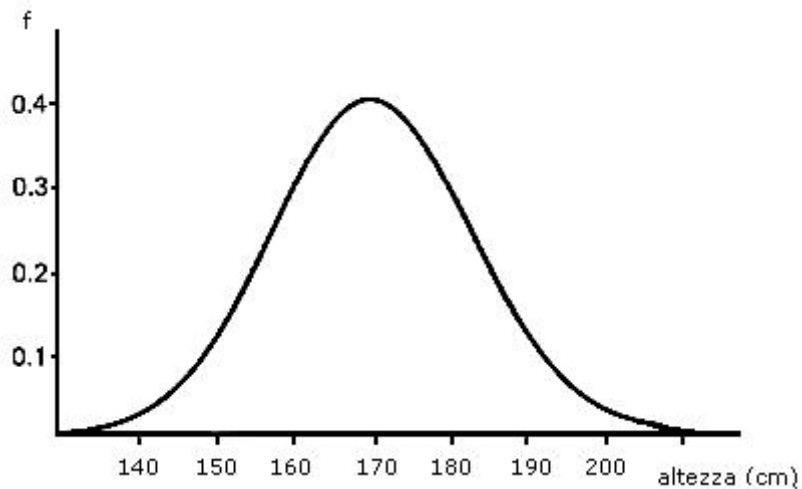
L'ereditarietà di questi caratteri è più complessa rispetto ai caratteri mendeliani che si presentano in poche forme alternative ed in proporzioni caratteristiche. In particolare questi caratteri non si prestano ad essere selezionati. Se infatti si tenta di selezionare un particolare valore di un carattere continuo (ad esempio una pianta alta 1,50 cm all'interno di piante che presentano tutte le altezze comprese tra uno e due metri) scegliendo nella progenie solo gli individui con quel valore ed incrociandoli, si ottengono sempre anche tutte le altre gradazioni.

Questo comportamento (non selezionabilità) aveva indotto i genetisti dell'inizio del '900 a ritenere che la variabilità di questi caratteri non avesse una base genetica, ma solo ambientale. Gli esperimenti condotti nei primi decenni del '900 dimostrarono che, oltre alla componente ambientale, tali caratteri presentano una base genetica di tipo poligenico, sono cioè caratteri controllati da numerosi geni (**eredità poligenica**).

Tutti i geni che controllano un carattere a variabilità continua presentano solo due tipi di alleli, detti **fattori**. Per questo motivo l'eredità poligenica è nota anche come eredità **polifattoriale**. I fattori possono essere solo di due tipi: **fattori positivi** (+) che spingono la manifestazione del carattere verso un estremo del suo intervallo di variabilità e **fattori negativi** (-) che spingono la manifestazione del carattere verso l'altro estremo del suo intervallo di variabilità. La manifestazione del carattere dipenderà dunque dalla particolare combinazione di fattori positivi e negativi.

I caratteri a variabilità continua presentano inoltre una particolare distribuzione di frequenza, nota come **curva a campana** o **gaussiana**.

Se ad esempio poniamo in ascissa le altezze della popolazione umana ed in ordinata la frequenza con cui gli individui di una determinata altezza compaiono nella popolazione, troveremo



Gli individui che presentano i valori estremi del carattere (con tutti i fattori positivi o tutti i fattori negativi) sono molto rari, mentre avvicinandoci ai valori intermedi gli individui diventano sempre più frequenti.

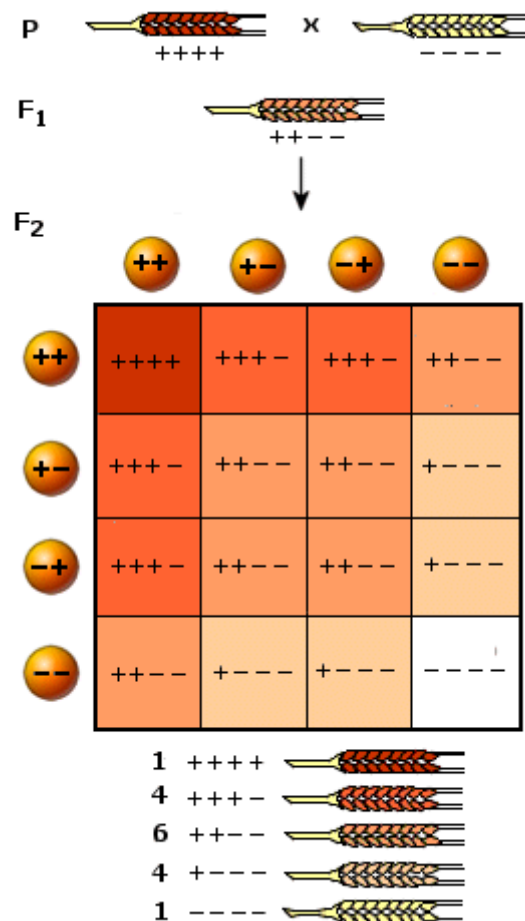
Incrociando individui che si trovano agli estremi opposti dell'intervallo di variabilità si ottiene una progenie di individui con caratteri intermedi (**regressione filiale**). Incrociando gli individui intermedi la generazione successiva tende nuovamente a distribuirsi secondo una gaussiana.

Un esempio particolarmente semplice di eredità poligenica è rappresentato dal colore della cariosside del frumento, controllato da due soli geni. Il colore della cariosside dipende dalla quantità di pigmento presente e va dal rosso cupo al bianco attraverso 5 tonalità complessive di colore.

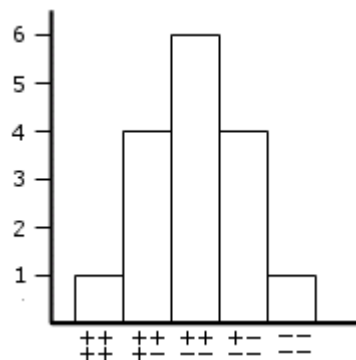
Se incrociamo due individui che stanno alle due estremità opposte dell'intervallo di variabilità, una pianta a semi rosso cupo (tutti e 4 i fattori positivi: genotipo ++ ++) con una pianta a semi bianchi (tutti e 4 i fattori negativi -- --) otterremo una pianta che riceverà ovviamente un gamete ++ da un genitore ed un gamete -- dall'altro. In F_1 avremo pertanto un individuo dal colore intermedio, con due fattori positivi e due negativi (++ --).

Incrociando la progenie F_1 e ipotizzando che i due geni possano ricombinarsi liberamente (assortimento indipendente) essi produrranno 4 tipi di gameti (++, +-, -+, --) che, posti ai due lati di un quadrato di Punnett, daranno 16 individui.

- 1 con quattro fattori positivi ++++
- 4 con tre fattori positivi ed uno negativo +++-
- 6 con due fattori positivi e due negativi ++--
- 4 con un fattore positivo e tre negativi +---
- 1 con quattro fattori negativi ----



Se riportiamo le 5 classi fenotipiche in un istogramma che ne evidenzi la distribuzione di frequenza, avremo



Come si può osservare due geni sono troppo pochi per ottenere una curva continua, ma l'aspetto è già quello della distribuzione gaussiana.

Un carattere controllato da tre geni (6 fattori) presenta in F₂ 7 classi di frequenza. Per costruire la distribuzione di frequenza dovremmo incrociare un individuo con tutti e 6 i fattori positivi (++ ++ ++ +) con un individuo con tutti e 6 i fattori negativi (-- -- --). Ovviamente otterremo in F₁ individui intermedi con tre fattori positivi e tre negativi (+- +- +-). Se incrociamo tra loro gli individui intermedi, nell'ipotesi che i fattori siano indipendenti e che quindi durante la gametogenesi vi sia una completa ricombinazione tra i fattori positivi e negativi, avremo $2^3 = 8$ tipi di gameti (+++, ++-, +-+, +--, ---, --+, -+-, -++). Posizionando i gameti ai due lati di un quadrato di Punnett otterremo $8 \times 8 = 64$ combinazioni genotipiche.

È comunque possibile evitare di riempire il quadrato di Punnett e trovare la distribuzione di frequenza cercata, sviluppando la potenza pari di un binomio

$$(P + N)^f$$

Dove

P = fattore positivo

N = fattore negativo

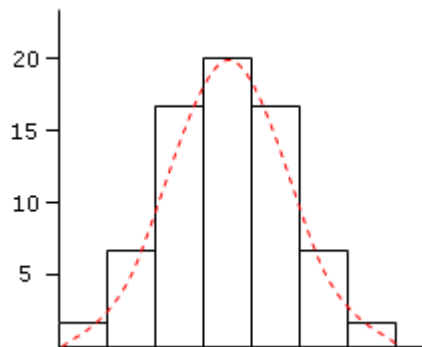
f = numero di fattori

Per 3 geni e quindi 6 fattori si ottiene

$$(P + N)^6 = 1P^6N^0 + 6P^5N^1 + 15P^4N^2 + 20P^3N^3 + 15P^2N^4 + 6P^1N^5 + 1P^0N^6$$

i 7 monomi che si ottengono corrispondono alle 7 classi di frequenza, con i coefficienti dei monomi che corrispondono agli individui di ciascuna classe.

$1P^6N^0$	1 individuo con 6 fattori positivi	1	++ ++ ++
$6P^5N^1$	6 individui con 5 fattori positivi ed 1 negativo	6	++ ++ +-
$15P^4N^2$	15 individui con 4 fattori positivi e 2 negativi	15	++ ++ --
$20P^3N^3$	20 individui con 3 fattori positivi e 3 negativi	20	++ +- --
$15P^2N^4$	15 individui con 2 fattori positivi e 4 negativi	15	++ -- --
$6P^1N^5$	6 individui con 1 fattore positivo e 5 negativi	6	+- -- --
$1P^0N^6$	1 individuo con 6 fattori negativi	1	-- -- --



è evidente che al crescere del numero di fattori che controllano il carattere il numero di classi di variabilità aumenterà e l'istogramma sarà sempre più simile ad una curva.

7.11 Mutazioni genetiche

Le mutazioni sono alterazioni casuali, permanenti ed ereditarie dell'informazione genetica di una cellula a livello della struttura o dell'organizzazione del suo DNA.

Il DNA è suscettibile di danneggiamento

- ad opera di agenti chimici e fisici presenti nell'ambiente (**agenti mutageni**)
- a causa del normale metabolismo cellulare che produce intermedi reattivi (radicali liberi) in grado di attuare modificazioni ossidative sulle molecole organiche
- a causa di errori nei processi cellulari di divisione cellulare durante la duplicazione del DNA o durante i processi meiotici di crossing-over e separazione degli omologhi.

Essendo modificazioni casuali a carico di un'informazione altamente strutturata ed ordinata, le mutazioni hanno una bassissima probabilità di produrre una alterazione favorevole dell'organismo. È un po' come se dessimo in mano i circuiti di un televisore ad una scimmia. La probabilità che alla fine riesca a trasformarli in quelli di un computer è praticamente nulla.

La maggior parte delle mutazioni sono dunque eventi sfavorevoli per l'individuo in cui si manifestano. Alcune di esse possono essere anche cancerogene (o teratogene), trasformando la cellula che le subisce in una cellula tumorale. In alcuni casi possono essere addirittura letali. Si deve comunque tener presente che le conseguenze per un organismo di una mutazione dannosa sono diverse a seconda che si manifestino a carico delle cellule somatiche o delle cellule germinali (riproduttive).

Se una cellula mutata dà origine solo a cellule somatiche (non sessuali) verrà prodotta un'area o un settore mutato ma queste nuove caratteristiche non verranno trasmesse alle generazioni successive. Questo tipo di mutazione è chiamata **mutazione somatica**.

Se, al contrario, la mutazione avviene nella linea germinale (cellule sessuali o riproduttive) di organismi che si riproducono sessualmente, la mutazione potrà essere trasmessa alla generazione successiva dando origine ad un individuo mutato sia nelle sue cellule somatiche sia nella linea germinale. Queste mutazioni vengono chiamate **mutazioni della linea germinale**.

Tuttavia, in una prospettiva biologica più ampia rispetto a quella del singolo individuo, le mutazioni sono considerate un evento fondamentale e positivo per l'evoluzione biologica. Le mutazioni sono infatti le principali responsabili della comparsa di nuovi geni e di nuovi alleli. In questo modo le mutazioni creano nuova variabilità genetica sulla quale può agire la selezione naturale. In assenza di mutazioni una specie non potrebbe evolvere ed avrebbe una elevata probabilità di non adattarsi alle modificazioni ambientali e conseguentemente di estinguersi.

Il valore biologico delle mutazioni non è dunque univoco: è in genere negativo per il singolo individuo, mentre è positivo per la specie (dal che si deduce che gli interessi del singolo individuo non coincidono necessariamente con gli interessi della specie alla quale appartiene).

Gli **agenti mutageni fisici** sono il calore, le radiazioni elettromagnetiche ad alta energia (raggi UV, raggi X e raggi gamma) e le radiazioni corpuscolari (radiazione alfa (nuclei di elio), radiazione beta (elettroni), neutroni e protoni). I mutageni fisici degradano il DNA, spezzandone i legami chimici.

Gli **agenti mutageni chimici** si classificano in analoghi dei nucleotidi, modificatori ed intercalanti.

Gli analoghi dei nucleotidi (o analoghi delle basi) sono molecole che presentano una somiglianza chimica con le normali base azotate, ma che la cellula non riconosce come diverse ed incorpora nel nuovo DNA che sintetizza.

Gli agenti modificatori (alchilanti, idrossilanti, deaminanti) alterano la struttura molecolare delle basi causando appaiamenti errati

Gli agenti intercalanti (acridine, bromuro di etidio) si inseriscono fra le basi azotate, legandosi ad esse e causano inserzioni e delezioni durante la replicazione del DNA.

Le mutazioni genetiche si classificano in geniche, cromosomiche e genomiche.

7.11.1 Mutazioni geniche

Le mutazioni geniche alterano un singolo gene, modificando una singola base azotata. Poiché avvengono in un punto preciso del gene sono anche dette **mutazioni puntiformi**.

Si classificano in mutazioni geniche per sostituzione, inserzione e delezione.

Le **mutazioni geniche per sostituzione** producono la sostituzione di una base azotata (ed ovviamente anche della sua complementare), modificando una tripletta di basi che codifica per un amminoacido. Gli effetti possono essere diversi. Infatti la nuova tripletta potrà codificare per il medesimo amminoacido, per nessun amminoacido o per un amminoacido diverso.

Nel caso la nuova tripletta codifichi per il medesimo amminoacido (sappiamo che più triplette possono codificare per il medesimo amminoacido), la sostituzione non avrà alcun effetto sulla struttura primaria della proteina (sequenza degli amminoacidi) e la mutazione si definisce **mutazione silente**.

Nel caso la nuova tripletta non codifichi per nessun amminoacido (tripletta **STOP**), la proteina mutata si spezza in due frammenti e perde ovviamente la sua funzionalità. La mutazione è definita **mutazione non-senso**.

Nel caso la nuova tripletta codifichi per un amminoacido diverso la sostituzione viene definita **mutazione di senso (missense)** ed i suoi effetti sulla funzionalità proteica dipendono dal punto in cui è avvenuta la mutazione. In una proteina possiamo infatti individuare dei tratti

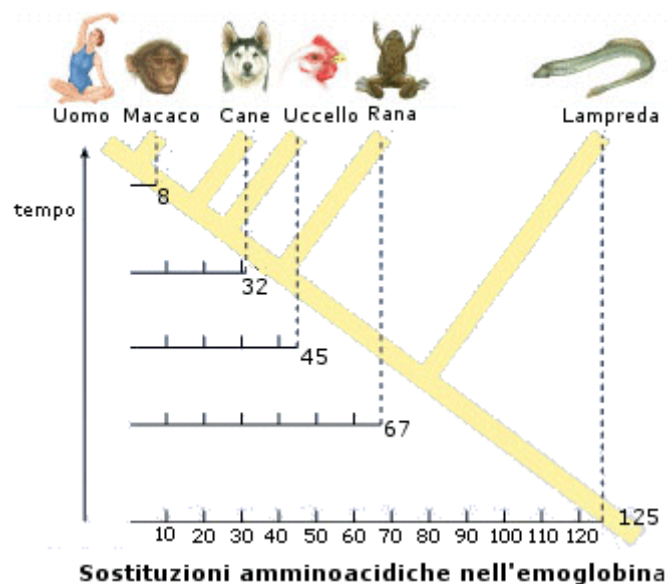
funzionali, la cui alterazione comprometterebbe l'attività della molecola, e dei tratti non funzionali in cui la sostituzione di un amminoacido non produce effetti.

Le sostituzioni amminoacidiche in tratti funzionali possono dunque alterare in modo più o meno grave la funzionalità proteica. Ne è un esempio l'anemia falciforme, una malattia genetica recessiva, in cui i globuli rossi assumono una caratteristica forma a falce. L'anemia falciforme è dovuta alla sostituzione di un unico amminoacido (valina al posto dell'acido glutammico) nelle catene beta dell'emoglobina.

Le sostituzioni amminoacidiche in tratti non funzionali sono dette **mutazioni neutre**. Tali mutazioni non portano infatti né vantaggi né svantaggi, poiché lasciano inalterata la funzionalità proteica. Per questo motivo le mutazioni neutre non sono "viste" dalla selezione naturale e possono pertanto accumularsi con ritmo costante ed in punti casuali all'interno delle regioni non funzionali di una proteina.

Le mutazioni neutre sono alla base degli orologi molecolari che i biologi utilizzano per ricostruire gli alberi filogenetici dell'evoluzione.

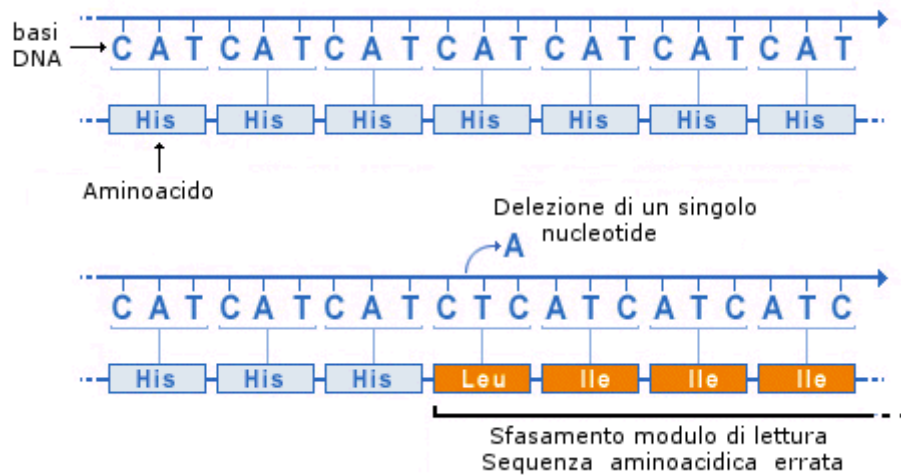
Un **orologio molecolare** è una proteina che si trova in molte specie diverse (proteina ubiquitaria), ad esempio l'emoglobina nei mammiferi o il *citocromo c* utilizzato nella catena respiratoria. Confrontando dunque la struttura primaria di una medesima proteina che si trova in due specie differenti (ad esempio l'emoglobina del cavallo con quella del cane) si possono evidenziare il numero di mutazioni neutre accumulate in termini di amminoacidi sostituiti. Una volta tarato l'orologio molecolare (cioè una volta stimato il tempo medio in milioni di anni affinché si accumuli una mutazione neutra), è possibile trasformare il numero di mutazioni trovate nel tempo trascorso dal momento in cui viveva l'antenato comune delle due specie studiate.



Le **mutazioni geniche per inserzione** provocano l'inserimento di un nuovo nucleotide.

Le **mutazioni geniche per delezione** provocano l'eliminazione di un nucleotide.

Queste mutazioni provocano oltre ad una modificazione del significato della tripletta di nucleotidi mutata, anche una sfasatura nella lettura di tutte le triplette successive. Queste mutazioni sono note come *mutazioni con slittamento del modulo di lettura* (frame-shift). Il cambiamento di tutti gli amminoacidi successivi al punto in cui è avvenuta la mutazione porta per lo più alla perdita della funzionalità proteica.

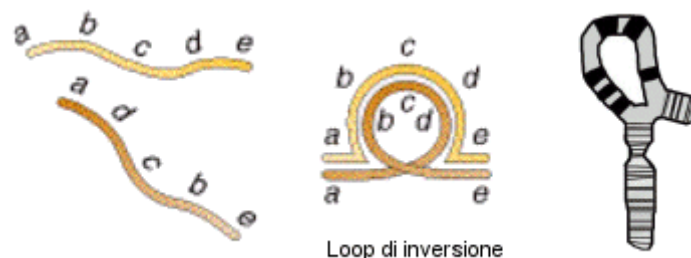


7.11.2 Mutazioni cromosomiche

Le mutazioni cromosomiche (o **aberrazioni**) sono alterazioni della struttura dei cromosomi che interessano uno o più geni e che si producono per lo più come conseguenza di errori durante il crossing-over, tramite rotture ed errate ricomposizioni dei cromosomi. In genere, i cromosomi rotti tendono a ricomporre le rotture e a ripristinare le strutture originarie, ma a volte, può capitare che il processo di riparazione non risulti corretto e si originano cromosomi anomali con strutture nuove. Si possono, così, verificare perdite, duplicazioni, inversioni o trasferimenti di pezzi più o meno estesi di cromosoma. I geni si vengono così a trovare in una posizione diversa da quella originale. Dato che la regolazione dell'attività di un gene dipende, in parte, anche dalla sua localizzazione nel genoma, le mutazioni cromosomiche hanno, generalmente, effetti estremamente drammatici.

Le mutazioni cromosomiche si classificano in *inversioni*, *traslocazioni*, *duplicazioni* e *delezioni*.

L'**inversione** è una aberrazione strutturale cromosomica (riarrangiamento di struttura) che origina da due rotture sul cromosoma, successiva rotazione di 180° del tratto compreso tra le rotture e sua reintegrazione nel cromosoma stesso. Le inversioni possono essere pericentromeriche (comprendono la regione del centromero e le rotture si verificano sul braccio corto e sul braccio lungo del cromosoma) e paracentromeriche (non comprendono la regione del centromero e le due rotture si verificano sullo stesso braccio cromosomico). L'inversione si origina in genere durante l'appaiamento meiotico degli omologhi con formazione di un'*ansa di inversione* (loop).



Loop di inversione

La **traslocazione** (trasposizione) è una aberrazione cromosomica strutturale che consiste nel trasferimento di un segmento di cromosoma in una posizione errata, con un cambiamento nella localizzazione di un segmento cromosomico.

La traslocazione può essere *intracromosomica* o *intercromosomica*.

La prima implica un cambiamento di posizione di un tratto cromosomico entro lo stesso cromosoma, sia da un braccio cromosomico all'altro sia entro lo stesso braccio.

La seconda implica lo spostamento di un segmento cromosomico ad un altro non omologo.

La traslocazione intercromosomica si definisce *reciproca* se ciascuno dei due cromosomi non omologhi trasferisce all'altro un proprio segmento.

La traslocazione intercromosomica si definisce *non reciproca* se il trasferimento è unidirezionale e solo uno dei due cromosomi trasferisce all'altro un proprio segmento.

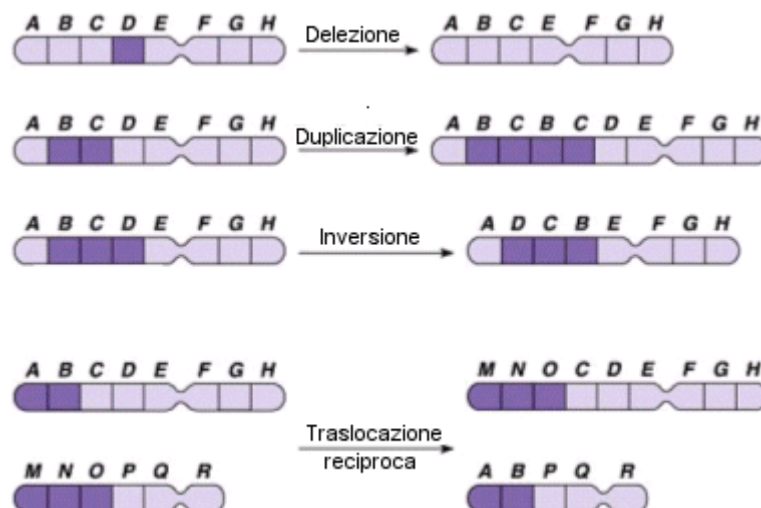
Una traslocazione non reciproca tra cromosomi omologhi produce una delezione su di un cromosoma (quello che perde il segmento) ed una duplicazione sull'altro cromosoma (quello che riceve il segmento).

Le traslocazioni bilanciate sono il caso più fortunato: consistono infatti nello "scambio alla pari" di frammenti fra cromosomi diversi. Questo tipo di traslocazione non comporta perdita di materiale genetico e perciò i portatori di una traslocazione bilanciata non manifestano in genere alcun segno clinico. Nel caso di una traslocazione non bilanciata, uno o più cromosomi in seguito alla traslocazione hanno subito la perdita di materiale genetico, mentre altri ne hanno in sovrappiù. Chi è portatore di una traslocazione bilanciata, pur non manifestando alcun sintomo, rischia di avere figli portatori di traslocazioni patologiche (non bilanciate).

La **delezione** è una aberrazione cromosomica strutturale che porta alla perdita di un segmento di cromosoma. In alcuni casi è associata alla duplicazione, poiché il segmento reciso viene trasferito sul cromosoma omologo dove si trovano i medesimi alleli. In altri casi il segmento viene semplicemente perso. La delezione si produce in genere con una modalità analoga all'inversione, con formazione di un'*ansa di delezione* che, invece di risaldarsi in posizione invertita, si stacca.

Le delezioni si possono evidenziare in un cariotipo attraverso l'assenza di una o più bande cromosomiche, o addirittura di un intero braccio, come avviene ad esempio nella sindrome 18p (**p** indica il braccio corto di un cromosoma, **q** il braccio lungo), dove è avvenuta la completa delezione del braccio corto di uno dei due cromosomi 18. L'effetto di una delezione dipende dalla grandezza della porzione mancante e dal tipo di informazione genetica in essa contenuta: in una sola banda cromosomica possono trovarsi centinaia di geni. Le microdelezioni, rispetto alle delezioni, consistono nella perdita di frammenti cromosomici più piccoli e non sono evidenziabili attraverso un normale cariotipo.

La **duplicazione** è una aberrazione cromosomica strutturale che porta alla presenza di due segmenti genici identici all'interno di un medesimo cromosoma. La duplicazione è in genere sempre accompagnata dalla contemporanea delezione del segmento duplicato nel cromosoma omologo (il segmento viene infatti trasferito durante il crossing-over da un omologo all'altro).



Eventi mutazionali quali delezioni, inversioni o traslocazioni possono avvicinare o allontanare sequenze nucleotidiche precedentemente contigue e pertanto modificare anche drasticamente l'espressione di geni coinvolti in tali riarrangiamenti cromosomici. Il diverso tipo di espressione di un gene in funzione della posizione occupata dal gene stesso all'interno del cromosoma e dei rapporti con geni limitrofi è definito **effetto di posizione**.

Esempi di cariotipi anomali e loro interpretazione	
Cariotipo	interpretazione
47,XX,+21	Cariotipo femminile (XX) a 47 cromosomi (47), per la presenza di un cromosoma 21 sovrannumerario (+) (Sindrome di Down)
47,XY,+21	Cariotipo maschile (XY) con cromosoma 21 sovrannumerario (+)
45,X	Cariotipo con monosomia del cromosoma X, solitamente associato alla sindrome di Turner
47,XXX	Cariotipo con trisomia del cromosoma X
47,XXY	Cariotipo con costituzione XXY dei cromosomi del sesso, associato alla sindrome di Klinefelter
46,XY,t(1;3)(p32;q12)	Cariotipo maschile in cui è presente una traslocazione (t) coinvolgente un cromosoma 1 ed un cromosoma 3. I punti di rottura della traslocazione sono localizzati a livello della banda 32 sul braccio corto (p) del cromosoma 1 ed a livello della banda 12 del braccio lungo (q) del cromosoma 3.
46,XY, del(5p)	Cariotipo maschile in cui è presente una delezione (del) del braccio corto (p) di un cromosoma 5. (Sindrome "cri-du-chat")
46,XX, del(1)(p32.2)	Cariotipo femminile in cui è presente una delezione (del) di parte del braccio corto (p) di un cromosoma 1, a livello della regione 3, nella banda 2, sottobanda 2.
46,XY, inv(7)(p13;q22)	Cariotipo maschile in cui è presente una inversione (inv) del cromosoma 7 del tratto che va dalla banda 13 del braccio corto (p) alla banda 22 del braccio lungo (q)
46,XY, dup(2)(q11;q21)	Cariotipo maschile in cui è presente una duplicazione (dup) del tratto che va dalla banda 11 alla banda 21 del braccio lungo (q) del cromosoma 2

7.11.3 Mutazioni genomiche

Le mutazioni genomiche sono alterazioni del numero dei cromosomi, come conseguenza della perdita o dell'aggiunta di interi cromosomi (*cromosomi soprannumerari*). Le mutazioni genomiche sono per lo più causate da una mancata disgiunzione degli omologhi durante la meiosi. Durante la gametogenesi può infatti capitare che i cromosomi omologhi non si distribuiscano equamente nei gameti. Un gamete con una anomalia di questo tipo, con cromosomi in difetto o in eccesso rispetto al suo normale corredo aploide, fecondato da un gamete normale, darà luogo ad uno zigote che non presenterà il suo normale corredo diploide. Quando una cellula presenta il suo corredo cromosomico normale, aploide o multiplo di esso, si definisce **euploide**. La variazione della condizione euploide con variazione del numero corretto di cromosomi si definisce **aneuploidia**.

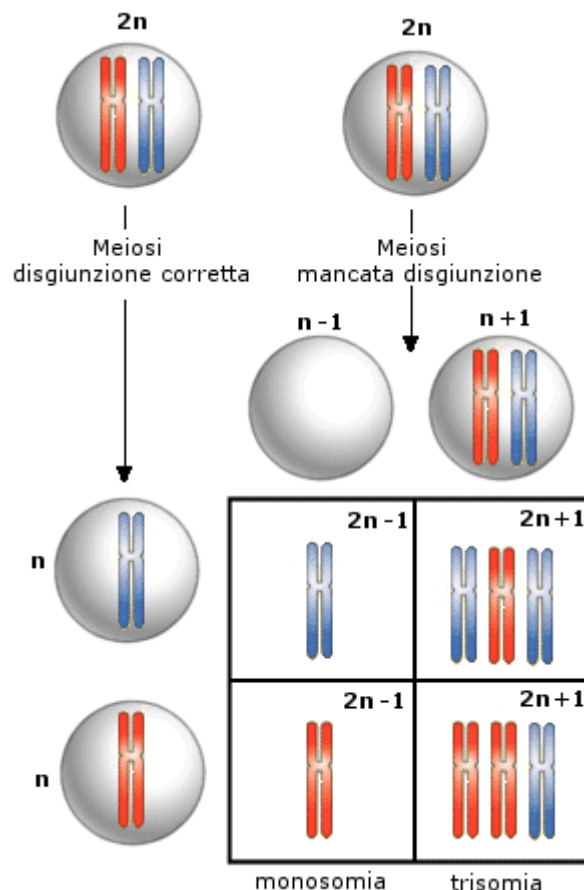
Le aneuploidie sono classificate da alcuni autori come aberrazioni cromosomiche.

La monosomia e la trisomia sono esempi di aneuploidia.

La **monosomia** è la presenza di un singolo cromosoma al posto di una coppia all'interno di un corredo diploide.

La **trisomia** è la presenza di tre omologhi al posto di una coppia all'interno di un corredo diploide.

Se la mancata disgiunzione riguarda l'intero corredo cromosomico si possono formare cellule polipoidi (**triploidi** 3n, **tetraploidi** 4n etc) con comparsa di intere serie di cromosomi soprannumerari. La **poliploidia** è in genere una condizione letale per gli animali, mentre nei vegetali è piuttosto diffusa (frumento, cotone, tabacco) e può produrre gigantismo e maggior produttività.



Il numero atipico di cromosomi può interessare sia i cromosomi sessuali che i restanti (autosomi). Le anomalie degli autosomi comportano effetti fenotipici molto più gravi rispetto a quelli riconducibili ai cromosomi sessuali. La maggior parte dei feti con gravi anomalie degli autosomi non arriva alla nascita in quanto il loro sviluppo è talmente anormale che la gravidanza si risolve precocemente con aborto spontaneo. Nell'ambito delle anomalie cromosomiche, molto comune fra gli aborti naturali è la poliploidia.

Aneuploidie autosomiche

Le anomalie degli autosomi, diversamente da quelle dei cromosomi sessuali, comportano effetti talmente gravi che sono compatibili con la vita solo la trisomia 21, responsabile della sindrome di Down, la trisomia 13, responsabile della sindrome di Patau e la trisomia 18, responsabile della sindrome di Edwards. Le altre trisomie complete non sono compatibili con la vita e quando sono presenti in un feto sono causa di aborto spontaneo.

La **sindrome di Down** o **trisomia 21** è causata dalla mancata disgiunzione dei cromosomi della coppia 21 in tre copie. Le persone con tale sindrome hanno in tutte le loro cellule 47 cromosomi con il cromosoma 21. L'incidenza della trisomia aumenta drasticamente con l'età della madre. Gli affetti presentano palpebre anomali, naso schiacciato, lingua larga, mani corte e robuste, statura bassa, ritardo mentale, probabili malformazioni cardiache, attesa di vita minore del normale.

La **sindrome di Patau** o **trisomia 13** è caratterizzata da gravi ritardi mentali. L'incidenza è più bassa rispetto alla sindrome di Down, ma come questa è legata all'età della madre. Gli affetti manifestano malformazioni fisiche come cranio ed occhi piccoli, e, molto spesso, difetti cardiaci, dita soprannumerarie e sordità.

La **sindrome di Edwards** o **trisomia 18** è caratterizzata da ritardo mentale e fisico. Gli affetti manifestano cranio allungato, orecchie con basso punto di attacco, cavità orale piccola e difetti cardiaci.

Aneuploidie cromosomi sessuali

Le anomalie più frequenti dei cromosomi sessuali sono le trisomie XXX, XXY, XYY e la monosomia X0, dove 0 sta per assenza dell'omologo del cromosoma X. Essendo la Y mascolinizante, la sua presenza indica il sesso maschile.

La **trisomia XXY** o **sindrome di Klinefelter** è causata dalla non disgiunzione delle X nella produzione dell'ovulo. Gli individui affetti sono maschi con testicoli non sviluppati, mancata produzione di spermatozoi, assenza di pelosità e barba, tono della voce che resta acuto. In genere, tali sintomi si accompagnano a statura alta e funzione intellettuale leggermente deficitaria.

La **monosomia X0** o **sindrome di Turner** produce femmine di bassa statura, collo tozzo e corto, organi sessuali infantili, assenza spesso di ovaie. Le capacità intellettive, in genere, risultano quasi normali.

Gli affetti della **trisomia XXX** sono femmine quasi normali sul piano fisico e riproduttivo, ma manifestano, molto spesso, consistenti ritardi mentali.

Gli affetti della **trisomia XYY** sono maschi che, a parte la tendenza a superare mediamente i 180 cm di statura, non manifestano sintomi fisici particolari. La trisomia XYY, data l'alta frequenza riscontrata nelle carceri, fu sospettata, dopo gli anni 60, di essere una probabile causa di comportamenti violenti. Studi approfonditi, però, hanno fatto rientrare del tutto tali sospetti. La trisomia XXY è causata da una mancata disgiunzione dei due cromatidi che formano il cromosoma Y durante la seconda divisione meiotica.

7.12 Malattie genetiche

Le malattie genetiche sono causate da alterazioni nel DNA di un individuo. Possono essere **acquisite**, come avviene nella maggior parte dei tumori, o **ereditarie** se l'alterazione del DNA viene trasmessa alle generazioni successive. Si classificano in

- Malattie geniche (o monogeniche o mendeliane)
- Malattie multifattoriali (o complesse o poligeniche)
- Malattie cromosomiche
- Malattie mitocondriali

Delle malattie genetiche di tipo cromosomico (aneuploidie) abbiamo già parlato.

Le **malattie monogeniche** o mendeliane sono causate dall'alterazione di un unico gene e seguono quindi in modo caratteristiche le leggi della ereditarietà mendeliana. La maggior parte di esse è portata da alleli recessivi. Una malattia genetica portata da alleli dominanti ha infatti molte più probabilità di essere eliminata dalla selezione naturale, poiché si esprime sempre, sia in forma omozigote che in forma eterozigote. Le malattie genetiche portate da alleli recessivi si esprimono invece solo in forma omozigote, mentre rimangono latenti in forma eterozigote (portatori sani). Possono così 'nascondersi' alla selezione naturale e sopravvivere nella popolazione.

Le malattie genetiche di tipo mendeliano si classificano in:

- Malattie autosomiche recessive
- Malattie autosomiche dominanti
- Malattie X-linked (legate al cromosoma X)
- Malattie Y-linked (legate al cromosoma Y)

7.12.1 Malattie geniche autosomiche

Le **malattie geniche autosomiche recessive** sono causate da alleli recessivi presenti negli autosomi, una delle 22 coppie di cromosomi non sessuali. Come abbiamo detto, essendo portate da alleli recessivi, sono le malattie genetiche di gran lunga più diffuse e frequenti. La malattia si manifesta solo se sono presenti entrambi gli alleli e quindi gli individui malati sono necessariamente omozigoti recessivi. Gli eterozigoti sono portatori sani.

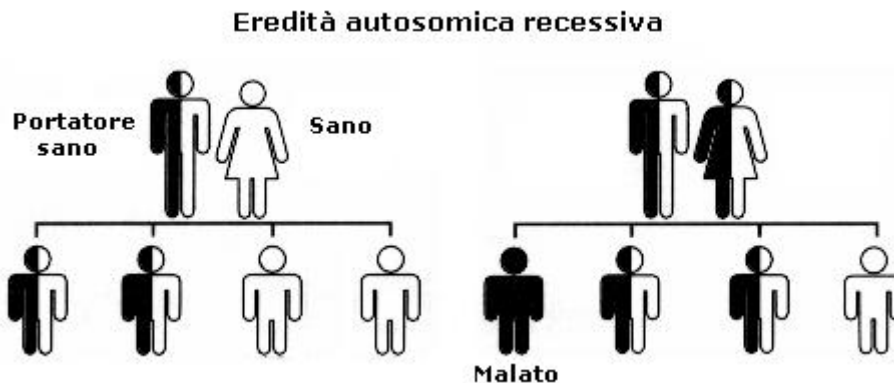
Possono essere affetti sia i maschi che le femmine.

Gli affetti sono in genere presenti in un'unica generazione (eredità *orizzontale*) e ricevono la malattia da entrambi i genitori portatori sani.

I genitori portatori sani hanno il 25% di probabilità di avere figli malati ad ogni gravidanza.

Per questo, per malattie ereditarie diffuse in zone circoscritte (come l'anemia mediterranea), è importante fare test genetici per individuare eventuali portatori sani i quali, se dovessero sposarsi tra loro, avrebbero una possibilità su quattro di generare figli malati.

Il modello dell'ereditarietà autosomica recessiva dimostra i principi della segregazione descritti da Mendel. Ognuno dei genitori porta un allele normale e uno difettoso e ha una probabilità del 50% al momento della meiosi di produrre un gamete con un allele difettoso. Ne consegue che la progenie avrà genotipi nella proporzione 1:2:1 e fenotipi nella frequenza di 3:1. Vale a dire che il 75% della progenie apparirà normale e il 25% evidenzierà un fenotipo recessivo (malato). La progenie "normale" avrà un rischio pari a due terzi di essere portatrice dell'allele malato (portatori sani).



Alcuni esempi di malattie autosomiche recessive sono la fenilchetonuria, la fibrosi cistica (o mucoviscidosi), l'anemia falciforme (o drepanocitosi), la beta talassemia, l'albinismo.

La **fibrosi cistica** (CF) è una malattia genetica caratterizzata dall'infezione cronica delle vie aeree ed è una malattia autosomica recessiva conseguente a mutazioni in un gene localizzato sul cromosoma 7.

La **fenilchetonuria**, detta anche PKU, è una malattia caratterizzata da un'aumentata concentrazione nel sangue e nell'urina dell'amminoacido fenilalanina e dei suoi derivati e da grave ritardo mentale.

Nell'**anemia falciforme** (o drepanocitosi), l'allele difettoso è codominante con quello normale: una persona eterozigote produce una certa quantità di globuli rossi a forma di falce mentre la forma normale di queste cellule del sangue è quella discoidale. Questa malattia è dovuta ad un errore durante la sintesi dell'emoglobina che determina un maggiore fragilità del globulo rosso che va incontro più facilmente a lisi (rottura) con conseguenti fuoriuscite dell'emoglobina: l'individuo affetto dalla malattia presenta uno stato di anemia più o meno grave. È stata osservata una maggior frequenza della malattia in certe aree geografiche (Africa, Grecia, Sicilia e parti del Medio Oriente).

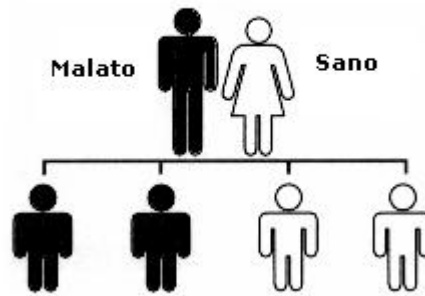
La **talassemia major** (o *Morbo di Cooley*) è una grave forma d'anemia ereditaria diffusa in tutto il bacino del Mediterraneo. I malati devono essere sottoposti a periodiche trasfusioni.

Le **malattie geniche autosomiche dominanti** sono causate da alleli dominanti presenti negli autosomi, una delle 22 coppie di cromosomi non sessuali.

Possono essere affetti sia i maschi che le femmine. Sono affetti gli eterozigoti, che portano l'allele malato solo in uno dei due cromosomi ereditati dai genitori. Sono estremamente improbabili individui malati omozigoti dominanti, poiché dovrebbero essere figli di genitori entrambi malati.

Gli affetti possono essere presenti in tutte le generazioni (eredità *verticale*). Ogni affetto ha sempre un genitore affetto (esistono però eccezioni). Ogni affetto ha il 50% di probabilità di avere figli malati ad ogni gravidanza.

Eredità autosomica dominante



Le malattie geniche autosomiche dominanti sono molto rare poiché, non potendosi mascherare nei portatori sani, sono state quasi tutte eliminate dalla selezione naturale. Tuttavia vi sono dei casi in cui le anomalie geniche dominanti possono trasmettersi ed avere una certa diffusione, in particolare quando le manifestazioni della malattia si presentano in età adulta. È questo il caso della **acondroplasia**, una forma di nanismo, della **corea di Huntington** (ballo di SanVito) che causa una progressiva degenerazione del sistema nervoso e della **distrofia muscolare miotonica**. Altre affezioni di questo tipo sono: la sindrome di Marfan, la malattia di von Willebrand, la stenosi subaortica ipertrofica e la porfiria acuta.

7.12.2 Malattie geniche legate al sesso (sex-linked)

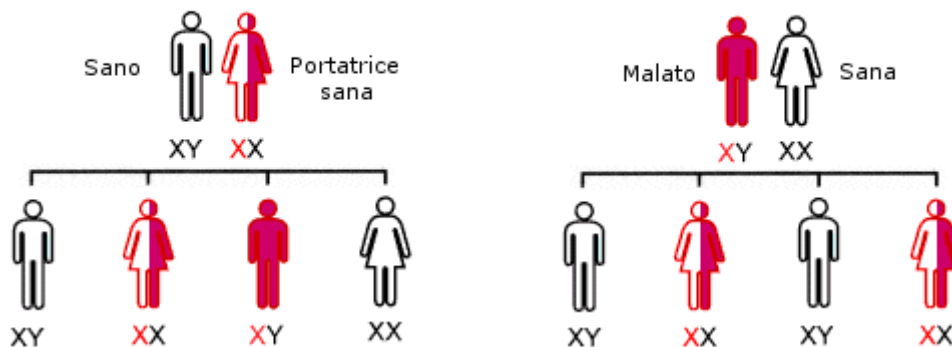
Malattie geniche legate al cromosoma X (X-linked)

Abbiamo già avuto modo di parlare di queste anomalie geniche nel capitolo relativo all'eredità legata al sesso (sex-linked). Si tratta di malattie portate da alleli recessivi o dominanti localizzati solo sul cromosoma X. Il cromosoma Y è più piccolo del cromosoma X e non porta l'allele corrispondente.

Nelle malattie ereditarie X-linked i geni anomali sono localizzati sul cromosoma sessuale X e di conseguenza il rischio clinico e la gravità della malattia sono diversi nei due sessi. Dato che il maschio presenta un solo cromosoma X, la presenza di un gene mutante dà luogo inevitabilmente alla manifestazione clinica morbosa, indipendentemente dall'espressività (recessiva o dominante) del carattere. Le malattie ereditarie legate al sesso non possono essere trasmesse da maschio a maschio, cioè dal padre al figlio, mentre il padre le trasmette a tutte le figlie. Nell'albero genealogico della famiglia la distribuzione delle malattie legate al sesso è diversa a seconda che si tratti di caratteri recessivi o dominanti (nella donna).

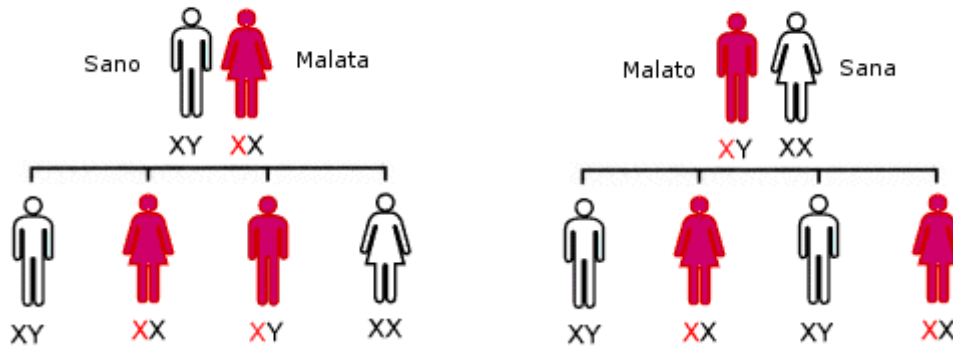
Nel caso si tratti di anomalie recessive, la malattia colpisce praticamente solo i maschi nati da madri portatrici (cl clinicamente sane).

Eredità X-linked recessiva



Le malattie X-linked dominanti sono rare. In questo caso una madre affetta ha un 50% di probabilità di trasmettere la malattia ai propri figli (maschi o femmine che siano), mentre un padre affetto trasmette la malattia solo alle figlie.

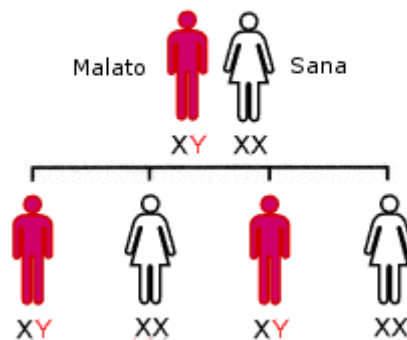
Eredità X-linked dominante



Le principali forme ereditarie legate al sesso di tipo recessivo sono l'emofilia A, la distrofia muscolare tipo Duchenne, il deficit di glucosio-6-fosfato-deidrogenasi, il daltonismo, la sindrome dell'X-fragile. Tra le forme morbose legate al sesso dominanti hanno una certa importanza clinica lo pseudoipoparatiroidismo e il rachitismo resistente alla vitamina D.

Le **malattie geniche Y-linked** sono molto rare. Ne sono affetti solo i maschi che trasmettono la malattia solo ai figli maschi.

Eredità Y-linked



7.12.3 Malattie genetiche multifattoriali

In questo gruppo vengono compresi numerosi quadri morbosi (solitamente di carattere cronico-degenerativo, a carico degli adulti), quali l'ipertensione essenziale, la psoriasi, l'epilessia, le malattie coronariche, il diabete mellito, l'ulcera peptica, l'asma bronchiale, alcune forme di depressione che presentano un caratteristico andamento familiare e i cui meccanismi patogenetici comprendono una serie di geni (più o meno alterati) che interagiscono in maniera cumulativa fino a dare luogo alla manifestazione morbosa. In altri termini, la componente ereditaria di queste affezioni si manifesta nell'interazione di molteplici fattori „predisponenti“ (su base genetica) con fattori multipli ambientali. Alcune persone possiedono per esempio una predisposizione genetica al cancro al polmone, ma potranno evitarlo evitando di fumare. Altri individui con predisposizione al diabete potranno non ammalarsi se terranno sotto controllo il peso corporeo. Dato che il numero esatto dei geni responsabili di questi tratti poligenici non è noto, è assai difficile calcolare con precisione il rischio che un soggetto presenta di ereditare una certa condizione morbosa.

7.12.4 Malattie genetiche mitocondriali

I mitocondri sono dotati di un proprio DNA (mtDNA). L'mtDNA è estremamente piccolo, ha struttura circolare, e contiene solamente 37 geni: 13 geni che codificano alcune delle subunità proteiche dei complessi della catena respiratoria e 24 geni che codificano molecole indispensabili alla sintesi di tali subunità (2 RNA ribosomali, rRNA e 22 RNA transfer, tRNA). Durante la fecondazione, i mitocondri presenti nel nuovo individuo (zigote) provengono solo dalla cellula uovo. Una madre portatrice di una mutazione del mtDNA trasmetterà tale

mutazione a tutti i propri figli, ma solo le figlie trasmetteranno a loro volta la mutazione alla loro progenie (**eredità matrilineare**).

La principale funzione dei mitocondri è quella di produrre energia. Quando questa energia viene a mancare, per un alterato funzionamento mitocondriale, la vita della cellula stessa e, conseguentemente, quella del nostro organismo sono a rischio. I mitocondri sono presenti in tutti i tessuti pertanto, le malattie mitocondriali, possono colpire qualsiasi organo, ma i più colpiti sono i tessuti e gli organi che "consumano" più energia: cervello, muscoli, cuore. Tali malattie, nelle diverse varianti, sono accomunate dall'induzione di un deficit energetico e sono comunemente definite encefalomiopatie mitocondriale. Dal punto di vista clinico sono molto variabili per quanto concerne età di esordio, tipo di evoluzione e tessuto coinvolto.

Nei neonati, tali malattie, possono manifestarsi con gravi anemie e disfunzioni pancreatiche comunemente note come sindrome del bambino flaccido (floppy infant) o coma cheto-acidotico con disfunzione epatorenale. Nell'infanzia possono rallentare o arrestare la crescita, causare danni renali, nanismo, disfunzioni endocrine (diabete mellito, diabete insipido), atrofia ottica, sordità, encefalopatia progressiva. Nell'età adulta, i sintomi ricorrenti, sono intolleranza allo sforzo ed affaticamento.

8 Ingegneria Genetica

L'**ingegneria genetica** (più propriamente **tecnologie del DNA ricombinante**) è un insieme di tecniche (biotecnologia) che ha l'obiettivo di inserire, eliminare, inattivare o modificare geni all'interno di un organismo, producendo **organismi geneticamente modificati (OGM)**.

Il termine 'OGM' è improprio da un punto di vista biologico in quanto *tutti gli organismi* caratterizzati da riproduzione sessuata sono, a rigor di termini, *geneticamente modificati* (nessun individuo è uguale ai propri genitori e nemmeno ai propri fratelli).

La definizione adottata dalla Direttiva europea 2001/18, che regola il rilascio ambientale degli OGM, è la seguente: «un organismo, il cui materiale genetico è stato modificato in modo diverso da quanto avviene in natura con l'accoppiamento e/o la ricombinazione genica naturale». Tale modifica viene definita con il termine di "**transgenesi**" e l'organismo da esso derivato viene detto **transgenico o ricombinante**.

Tutto ciò che viene invece ottenuto con programmi di miglioramento genetico convenzionale (incrocio e selezione) «inclusa la mutagenesi (mutazioni indotte dall'esposizione a radiazioni o ad mutageni chimici.) e la fusione cellulare di cellule vegetali di organismi che possono scambiare materiale genetico anche con metodi di riproduzione tradizionali» è escluso dalla definizione di OGM, pur comportando modificazioni del genoma spesso di gran lunga superiori. Tali organismi mutati, non essendo classificati come OGM sono ammessi all'uso anche in agricoltura biologica e molte di queste cultivar (varietà vegetali) sono attualmente presenti sul mercato ed apprezzate dai consumatori. Il popolare grano duro italiano (varietà Creso), ad esempio è una mutazione ottenuta nel 1974 irraggiando la varietà "Cappelli" con raggi gamma provenienti da scorie di reattori nucleari.

Si tenga quindi presente che modificazioni del patrimonio genetico di piante ed animali erano state ottenute anche precedentemente l'avvento delle tecniche di ingegneria genetica. Ma con il termine OGM si intende fare una distinzione tra gli organismi il cui patrimonio genetico è stato modificato tramite l'uso di tecniche di miglioramento genetico classico, considerate "naturali", da quelli modificati tramite la tecnica del DNA ricombinante, che consentono l'inserimento mirato di sequenze geniche che conducono al fenotipo desiderato.

La maggior parte dei risultati finora conseguiti attraverso l'utilizzo delle tecniche de DNA ricombinante sono stati ottenuti attraverso l'isolamento di geni e la successiva introduzione in un ospite eterologo, anche appartenente ad una specie differente (una sorta di trapianto genico), al fine di conferire caratteristiche nuove alle cellule riceventi. L'obiettivo è quello di esprimere una proteina nuova all'interno di un organismo diverso da quello di origine allo scopo di conferirgli caratteristiche utili.

Attualmente le applicazioni più promettenti si hanno in campo agroalimentare, biomedico ed ambientale.

Applicazioni agroalimentari

- piante resistenti agli erbicidi
- piante resistenti ai parassiti
- piante resistenti alla siccità
- frutti che si conservano più a lungo
- alimenti arricchiti dal punto di vista nutrizionale (vitamina A nel riso, acidi grassi nella soia).

Applicazioni biomediche ed ambientali

- Sintesi di molecole (microrganismi in grado di sintetizzare farmaci, ormoni, vaccini, enzimi, antibiotici etc)
- depurazione (batteri che degradano idrocarburi, piante capaci di stoccare metalli pesanti)
- Terapia genica (sostituzione geni alterati, introduzione di geni in cellule malate che blocchino il malfunzionamento, introduzioni di geni in cellule tumorali che ne inducano la morte)
- test DNA o DNA fingerprinting (letteralmente impronta digitale del DNA, individuazione e confronto DNA per test di paternità, casi di omicidio)

Le tecnologie del DNA ricombinante si avvalgono di tre strumenti molecolari fondamentali:

- i vettori genici particolari molecole di DNA in grado di ospitare un gene estraneo e di introdurlo in un genoma.
- gli enzimi di restrizione in grado di 'ritagliare' un frammento di DNA contenente il gene e di 'aprire' i vettori genici in modo tale che entrambi, vettore ed inserto genico, presentino le estremità complementari e facilmente ricomponibili
- le DNA-ligasi, enzimi in grado di ricomporre i frammenti in modo tale che il gene si integri nel vettore genico.

8.1 Gli enzimi di restrizione

Gli enzimi di restrizione sono delle endonucleasi, enzimi della famiglia delle **nucleasi**, che i batteri utilizzano per difendersi dai virus che li infettano, facendo a pezzi il DNA virale. Le nucleasi si distinguono in **endonucleasi**, che tagliano il filamento di DNA in un punto interno dividendolo in due frammenti ed **esonucleasi**, che degradano il DNA asportandone nucleotidi alle estremità.

Gli enzimi di restrizione presentano la notevole peculiarità di tagliare il DNA solo in corrispondenza di particolari sequenze di basi (in genere 4, 6 o 8 basi) che essi riconoscono (**siti di restrizione**).

I siti di restrizione sono quasi tutti palindromi, cioè la successione delle loro basi presenta una sequenza ad essa complementare che risulta uguale se letta al contrario. Ad esempio la successione ACTAGT ha come complementare la successione TGATCA (che è uguale alla precedente letta al contrario). Per convenzione le sequenze di riconoscimento sono scritte da sinistra a destra in direzione 5' → 3'. Quindi ACTAGT rappresenta la sequenza 5'- ACTAGT -3'.

(Una frase è palindroma quando è uguale se letta nei due sensi: "i topi non avevano nipoti")

In un filamento di DNA si trovano naturalmente numerosi siti di riconoscimento per una particolare endonucleasi. In questo modo le endonucleasi tagliano il DNA in molti segmenti, detti **frammenti di restrizione**.

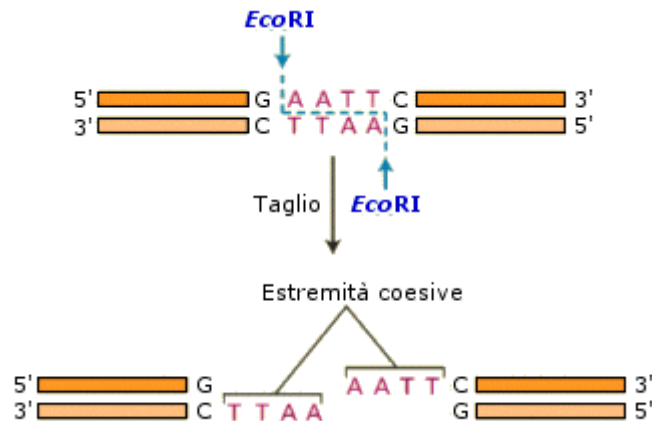
Gli enzimi di restrizione possono tagliare il DNA in due modi. Alcuni enzimi tagliano il DNA lasciandone le estremità piatte, altri lasciando le estremità sfalsate (alcuni con il filamento 5' più lungo del filamento 3', altri viceversa).

Gli enzimi di restrizione che generano estremità sfalsate sono quelli comunemente usati in ingegneria genetica. Infatti tutte le estremità generate dagli enzimi che operano un taglio sfalsato, siano esse sporgenti in 5' o in 3', sono "**coesive**" (o **adesive** o **appiccicose**, sticky ends), cioè possono formare ponti idrogeno tra le due code a filamento singolo complementari. Nel caso l'enzima di restrizione produca estremità piatte è possibile aggiungere una "coda" (**tailing**) sfalsata, usando l'enzima **terminal transferasi**, che aggiunge nucleotidi alle estremità 3' del DNA, generando estremità coesive.

Le estremità coesive facilitano la reazione di ricomposizione della DNA ligasi.

In questo modo, mescolando frammenti di restrizione, anche provenienti da DNA diverso, tagliati con la medesima endonucleasi, i frammenti aderiscono spontaneamente con le loro estremità coesive per un tempo sufficientemente lungo da rendere efficace l'azione di saldatura (formazione dei legami fosfo-diestere) della DNA-ligasi.

L'enzima di restrizione EcoRI (leggi "*Eco erre primo*"), ad esempio, si lega a sequenze specifiche di DNA in doppia elica **GAATTC**. Taglia (idrolizza) in modo sfalsato i legami fosfodiesterici tra Guanina ed Adenina su entrambi i filamenti (il taglio produce gruppi 3'-OH e 5'-fosfato), generando frammenti di DNA che hanno quattro basi sporgenti in singolo filamento alle estremità 5' (estremità 5' sporgenti).



La nomenclatura degli enzimi di restrizione prevede:

1. Le prime tre lettere, scritte in corsivo, sono prese dalla nomenclatura binomiale del batterio di origine.
2. Sierotipi differenti dello stesso organismo sono identificati da una quarta lettera minuscola (Es. *Hind*, *Hinf*).
3. Segue una lettera maiuscola o un numero, che identificano un ceppo particolare di quel batterio, ove fosse necessario.
4. Un numero romano indica l'ordine di scoperta, qualora dallo stesso batterio vengano isolati enzimi diversi.

Ad esempio:

Pst I *Providencia stuarti* (I enzima isolato)

Eco RI *Escherichia coli* Ry13 (I enzima isolato)

Eco RII *Escherichia coli* R245 (II enzima isolato)

8.2 cDNA (DNA complementare)

Gli enzimi di restrizione non sono l'unico modo per ottenere un inserto genico da inserire in un vettore. Attraverso l'enzima *trascrittasi inversa* (o *retrotrascrittasi*) è possibile catalizzare la trascrizione dell'mRNA in DNA. Dopo che è avvenuta la sintesi di un filamento singolo di DNA si assembla il secondo filamento di DNA, usando il primo come stampo. Il DNA che si forma in questo modo è detto cDNA (DNA complementare). Questa tecnica è utile quando si vuole far esprimere un gene umano ad un batterio. I geni umani sono infatti costituiti di sequenze codificanti (esoni) e sequenze non codificanti (introni) ed i batteri non possiedono le strutture adatte per eliminare gli introni prima di sintetizzare la proteina corrispondente. La molecola di mRNA che si è formata a partire dal gene ha già eliminato gli introni (splicing). Ricostruendo quindi il gene a partire dall'mRNA si ottiene una sequenza genica 'pulita' che i batteri potranno poi trasformare nella proteina corrispondente.

8.3 Vettori genici

I vettori genici sono delle sequenze di DNA di diversa natura nelle quali sia possibile inserire delle altre sequenze nucleotidiche (gene esogeno) e che siano in grado di integrarsi con il DNA-bersaglio introducendovi il gene esogeno. Attualmente sono disponibili diversi tipi di vettori genici, la cui scelta dipende dalla natura (animale, vegetale, procariote) della cellula bersaglio che deve ricombinare il suo DNA e dalle dimensioni dell'inserto genico che devono ospitare.

VETTORI GENICI	DIMENSIONI DELL'INSERTO
Plasmide	0 -10 kbp
Fago λ	10 -20 kbp
Cosmide	30 -45 kbp
Fago P1	70 - 100 kbp
PAC (cromosomi artificiali P1)	130 - 150 Kbp
BAC (cromosomi batterici artificiali)	0 - 300 Kbp
YAC (cromosomi artificiali di lievito)	0,2 - 2 Mbp
MAC (cromosomi artificiali di mammifero)	> 1 Mbp

I vettori più usati per i batteri (*E.coli*) sono i plasmidi e i derivati da virus batteriofagi.

Nel caso di vegetali si utilizza un batterio parassita endocellulare di molte specie di piante, l'*Agrobacterium tumefaciens*, il cui plasmide Ti è in grado di inserirsi nel genoma della cellula vegetale.

Per il lievito (*Saccharomyces cerevisiae*), un eucariote unicellulare, si utilizza il suo plasmide naturale 2 μ m (lunghezza della sua circonferenza) ed una serie di vettori ingegnerizzati da esso derivati.

Infine, per ricombinare cellule animali si utilizzano prevalentemente vettori di natura virale.

CELLULA OSPITE	VETTORI GENICI COMPATIBILI
Batterio	Plasmidi, fago λ , fago M13, fago P1, PAC, BAC, YAC
Lievito	Plasmide 2 μ m, Plasmidi "navetta" (<i>shuttle</i>), vettori ARS, YAC
Cellule animali	Vettori derivati da virus
Cellule vegetali	Plasmidi derivati dal batterio <i>Agrobacterium tumefaciens</i>

Caratteristiche di un vettore genico

In generale, per svolgere la sua funzione, un vettore deve possedere le seguenti proprietà:

- Un segmento di DNA che lo renda capace di replicarsi nella cellula ospite (**replicon**) o di integrarsi al suo genoma. Il DNA del replicone interagisce con gli enzimi coinvolti nell'avvio della replicazione del DNA. Un **replicone** è un'unità genetica composta da un'origine di replicazione del DNA (*ori*) e dagli elementi di controllo ad essa associati. Si può anche definire come il più piccolo pezzo di DNA in grado di replicarsi nell'ospite mantenendo un numero stabile di copie. Nei plasmidi, un "replicone" è lungo in media 500 bp.
- Uno o più **marcatori genetici**, la cui presenza permetta di selezionare le cellule che ospitano il plasmide. I marcatori genetici possono essere resistenze ad antibiotici o marcatori nutrizionali.
- **Singoli siti di taglio** per il più alto numero possibile di enzimi di restrizione. I vettori sintetici (ingegnerizzati) più recenti presentano un'unica regione (sito di policlونaggio o *polylinker*) che riunisce i siti di riconoscimento per gli enzimi di restrizione più comuni. Questi siti devono stare al di fuori delle regioni essenziali (replicone e marcatore).

Non è essenziale, ma può essere molto utile inserire nel vettore degli elementi di controllo dell'**espressione genica**. Uno dei più usati è l'**operone lac** che in *E.coli* controlla la sintesi degli enzimi necessari all'utilizzo del lattosio da parte del batterio. L'operone è formato da più geni che interagiscono. Uno di questi, il promotore P_{lac} , attiva i geni a valle in presenza di lattosio. È dunque sufficiente inserire il gene di interesse a valle del promotore P_{lac} per avere a disposizione un meccanismo semplice di controllo della sua espressione. In presenza di lattosio (o di molecole analoghe che non possono essere metabolizzate da *E. coli*) la cellula sintetizza la proteina codificata dal gene che ci interessa, mentre in assenza di lattosio il gene di interesse non si esprime. Vettori che contengono regioni per il controllo dell'espressione sono detti **vettori d'espressione**.

L'operone *lac* è anche un buon esempio di **marcatore nutrizionale** utilizzabile, assieme ad una resistenza ad un antibiotico, per selezionare le cellule che ospitano il plasmide ricombinante. L'operone *lac* contiene infatti la sequenza-bersaglio dell'enzima di restrizione e quindi se il plasmide riceve l'inserto del DNA donatore, questo si inserisce all'interno dell'operone e la funzione di digestione del lattosio viene persa.

Le cellule trasformate dal plasmide ricombinato acquistano la resistenza all'antibiotico, ma non la capacità di digerire il lattosio (infatti il gene LacZ viene interrotto dall'inserzione del DNA fagico),
le cellule che si trasformano col plasmide non ricombinato acquistano entrambe le proprietà,
le cellule che non acquistano alcun plasmide restano sensibili all'antibiotico.

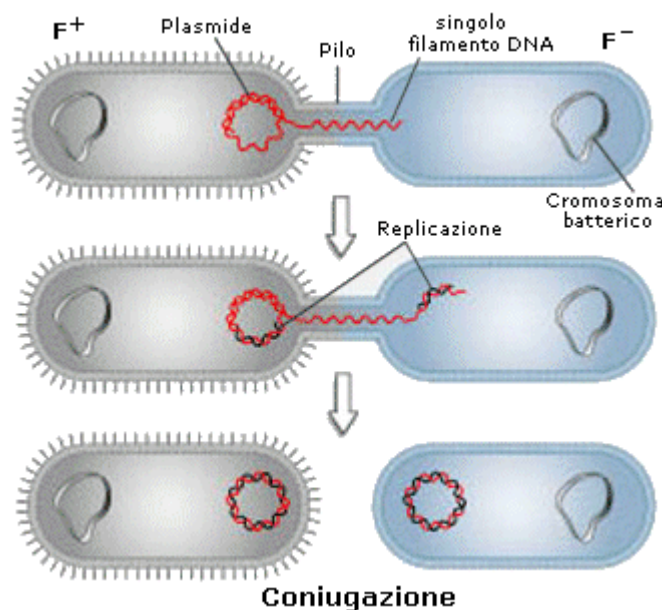
8.3.1 Plasmidi

I primi vettori genici individuati ed utilizzati sono stati i plasmidi.

I **plasmidi** sono brevi sequenze anulari di DNA batterico extracromosomiche. Tutti i batteri possiedono un unico filamento di DNA chiuso ad anello, detto **cromosoma batterico**. Alcuni batteri possiedono inoltre alcuni filamenti anulari più piccoli, contenenti qualche decina di geni, detti plasmidi, che sono in grado di duplicarsi indipendentemente dal cromosoma batterico.

Se sottoposti a stress ambientale (carenza alimentare, antibiotici) i batteri effettuano un processo di **coniugazione**, attraverso il quale una cellula donatrice (F^+) trasferisce copia di uno o più plasmidi ad una cellula ricevente (F^-). Durante il processo di coniugazione due batteri si uniscono attraverso un ponte citoplasmatico (pilo sessuale). Nella cellula donatrice il plasmide inizia a replicarsi a partire da un punto, detto '*sito di origine della replicazione*' (ori). Il filamento di DNA che viene sintetizzato dal nuovo filamento penetra attraverso il pilo nella cellula ricevente.

La cellula ricevente duplica a sua volta il monofilamento ricevuto rigenerando il plasmide completo. I geni trasferiti sono successivamente integrati nel cromosoma batterico.



I batteri si riproducono asessualmente per mitosi. Ciò significa che gli individui di ogni nuova generazione sono geneticamente identici a quelli della generazione precedente. Questa uniformità genetica è evidentemente controproducente. La probabilità di adattarsi alle variazioni ambientali è tanto più elevata quanto maggiore è la variabilità genetica all'interno di una popolazione. I batteri risolvono questo problema tramite la coniugazione, un fenomeno attraverso il quale ricombinano il loro patrimonio genetico, creando nuova variabilità ed aumentando le probabilità di sopravvivenza.

La coniugazione batterica è un fenomeno di **sessualità**.

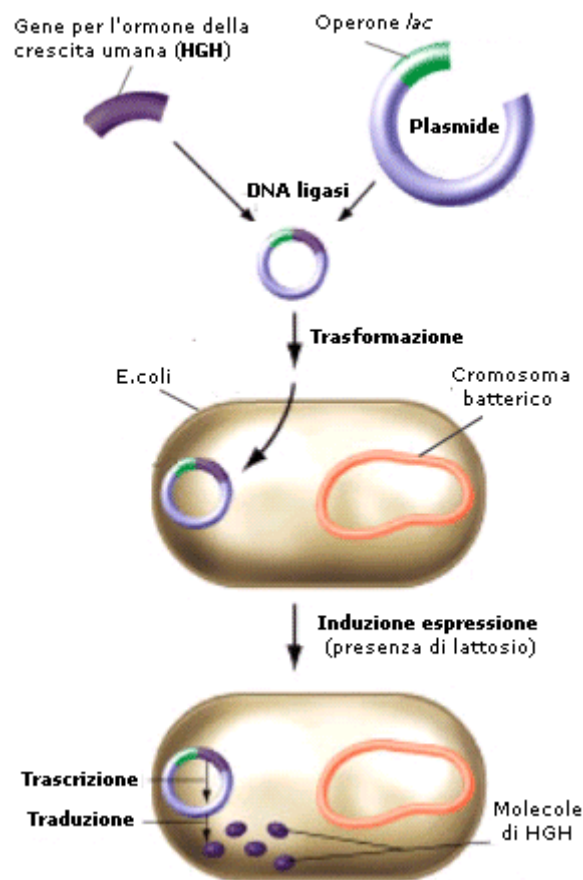
Da un punto di vista biologico infatti riproduzione e sessualità sono fenomeni diversi. La riproduzione genera nuovi individui. La sessualità genera variabilità genetica. Negli organismi superiori, dove avviene una riproduzione sessuata, i due processi avvengono contemporaneamente. La formazione dei gameti necessari alla riproduzione avviene infatti attraverso processi sessuali di rimescolamento dei caratteri genetici (crossino-over, assortimento indipendente degli omologhi) che garantisce una elevata variabilità genetica.

Per questa loro capacità di entrare in un batterio ed integrarsi con il cromosoma batterico, i plasmidi sono dei vettori ideali per inserire geni esogeni e farli esprimere ai batteri. È in questo

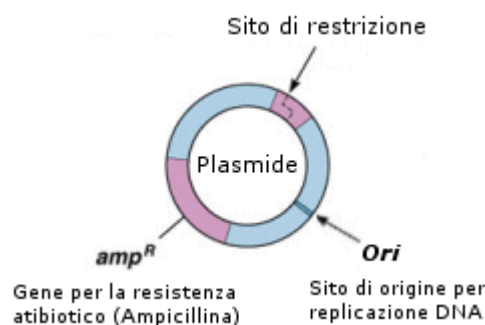
modo, ad esempio, che per la prima volta si è riusciti a far sintetizzare a *Escherichia coli* insulina umana.

Tra i diversi tipi di plasmidi che i batteri sono in grado di trasferire, sono particolarmente importanti ed utilizzati nelle tecniche del DNA ricombinante i **plasmidi R**, che contengono geni che conferiscono al batterio la resistenza agli antibiotici. Questa caratteristica è utilizzabile per discriminare facilmente i batteri che hanno ricevuto il plasmide con il gene esogeno da quelli che non l'hanno ricevuto. È infatti sufficiente trattare la popolazione batterica con l'antibiotico di cui il plasmide porta il fattore di resistenza: solo i batteri ricombinanti ovviamente sopravviveranno. Attualmente si utilizzano plasmidi che portano geni per la resistenza alla ampicillina (amp) o alla canamicina (kan).

Per essere utilizzato come vettore genico un plasmide deve poi possedere un unico sito di attacco per l'enzima di restrizione che si vuole usare. In questo modo, trattato con l'enzima di restrizione, il plasmide si aprirà in un solo punto, dove poi si salderà il gene esogeno.

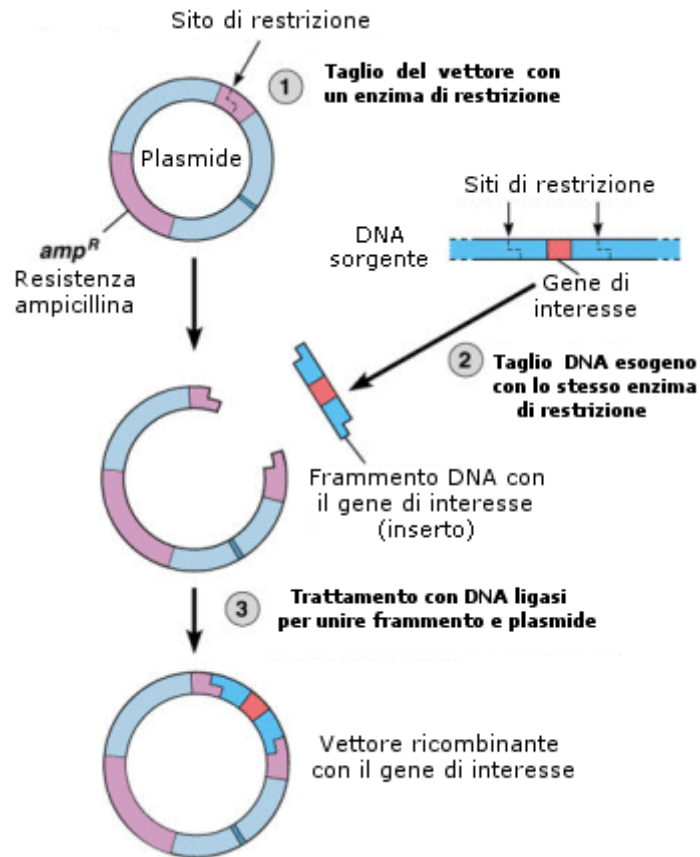


Tra tutti i vari vettori disponibili, i plasmidi hanno acquistato un posto privilegiato per la loro affidabilità e facilità di manipolazione. Semplicemente, lavorano meglio degli altri vettori se il DNA da clonare non è di grandi dimensioni



In sintesi dunque le fasi per la produzione di un plasmide ricombinante sono:

- Il **DNA sorgente** (o donatore) viene sottoposto ad enzimi di restrizione che lo tagliano in frammenti, uno dei quali conterrà il **DNA bersaglio** (inserto) con il gene di interesse.
- Gli stessi enzimi vengono poi usati per creare sul plasmide un punto di rottura complementare in cui poter inserire il DNA esogeno.
- Mediante l'azione della DNA-ligasi si saldano i frammenti del DNA sorgente al plasmide.



È possibile anche utilizzare plasmidi con due siti di riconoscimento per enzimi di restrizione diversi ed utilizzare gli stessi due enzimi per tagliare il frammento di DNA bersaglio da inserire. Si ottengono frammenti con estremità coesive differenti. Il vantaggio di questa strategia è che, siccome solo le estremità "sorelle" sono compatibili tra loro, l'inserto di DNA si lega al vettore in un solo modo (**clonazione direzionale**), permettendo di conoscere in anticipo l'orientamento dell'inserto. Inoltre il vettore tagliato con due enzimi diversi non circularizza (non si richiude prima di aver saldato l'inserto), perché le due estremità non sono compatibili.

Il plasmide ricombinante a questo punto è pronto per essere introdotto nelle cellule batteriche. Il trasferimento di un plasmide ricombinante avviene sfruttando in genere il fenomeno della **trasformazione batterica**.

La **trasformazione** batterica è un processo naturale, attraverso il quale alcuni procarioti (detti **competenti**) sono in grado di ricevere del DNA esterno in grado di produrre nuove caratteristiche. Questo fenomeno fu scoperto nel 1928 da Frederick Griffith. Prima dell'avvento degli antibiotici, i pazienti affetti da polmonite venivano trattati con antisieri preparati iniettando cellule morte del batterio agente della malattia (*Streptococcus pneumoniae*). Il medico inglese Frederick Griffith nel tentativo di preparare antisieri più efficaci si imbatté in risultati inattesi. *Streptococcus pneumoniae* è un batterio la cui parete è rivestita da una spessa capsula. Gli zuccheri della capsula provocano la risposta immunitaria dell'ospite. Un **sierotipo** è un ceppo batterico con proprietà immunologiche particolari, che gli sono conferite dalla mistura di zuccheri della capsula. Griffith dimostrò che i batteri avirulenti, a contatto con i batteri virulenti morti, ne acquisivano sempre il sierotipo. Il processo di conversione dei batteri avirulenti innocui in cellule virulenti fu chiamato **trasformazione**. Gli esperimenti di Griffith

hanno un'importanza storica notevole, perché portarono Oswald Avery (Columbia University, New York) ad indagare quale fosse il principio trasformante, che permetteva ai batteri avirulenti di acquistare le proprietà delle cellule morte. Nel 1944 Avery, MacLeod e McCarty dimostrarono che il principio trasformante era il DNA. La cellula ricevente assorbe dall'ambiente un frammento "nudo" di DNA rilasciato da una cellula donatrice. Tuttavia la rigida parete cellulare dei batteri è di grande ostacolo al passaggio delle macromolecole di DNA. Pochi generi di batteri (*Streptococcus*, *Neisseria*, *Hemophilus*) presentano lo stato di competenza alla trasformazione in modo naturale durante una fase del loro ciclo vitale, in cui riformano la parete cellulare. Questi batteri possiedono una **competenza naturale** alla trasformazione e non richiedono nessun trattamento particolare per indurre la loro capacità di assumere il DNA. Virtualmente, tutti i batteri hanno la capacità di assumere DNA "nudo" dall'ambiente, posto che acquistino una "competenza" alla trasformazione. La maggioranza dei batteri non è naturalmente competente alla trasformazione, per cui è necessario indurre uno stato di **competenza artificiale**. Oggi sono state sviluppate alcune tecniche chimiche e fisiche, per quanto molto empiriche, in grado di rendere competenti anche batteri che non lo sono naturalmente. I batteri gram-negativi diventano competenti se trattati con agenti chimici o fisici. I batteri gram-positivi non possiedono la membrana esterna propria degli organismi gram-negativi. Tuttavia l'ingresso del DNA è impedito dalla presenza di uno strato rigido esterno di mureina o peptidoglicani, che è molto più spesso del suo equivalente nei batteri gram-negativi. Questo strato deve essere preventivamente idrolizzato con lisozima, quindi i **protoplasti** (cioè i batteri senza parete cellulare) si possono trasformare.

- I metodi chimici si basano sull'osservazione che batteri trattati con soluzioni fredde di **cationi bivalenti** lasciano entrare DNA nudo in modo più efficiente. Si ipotizza che l'aggiunta di ioni bivalenti (Ca^{2+}), mascherando le cariche negative del DNA, ne favorisca l'ingresso nella cellula. L'introduzione è favorita da brevi periodi di **shock termico**.
- I metodi fisici si basano sull'osservazione che la presenza di un campo elettrico destabilizza le membrane batteriche ed induce la formazione di pori transienti del diametro di alcuni nanometri (**elettroporazione**). Le molecole di DNA passano attraverso questi pori applicando impulsi di voltaggio elevato (12,5-15 kV/cm)..

Un limite all'utilizzo del plasmide come vettore è dato dalla dimensione del frammento del DNA che esso può effettivamente contenere ed al fatto che non può essere utilizzato per trasformare cellule animali. Sono stati quindi sviluppati altri sistemi vettore.

8.3.2 Vettori virali

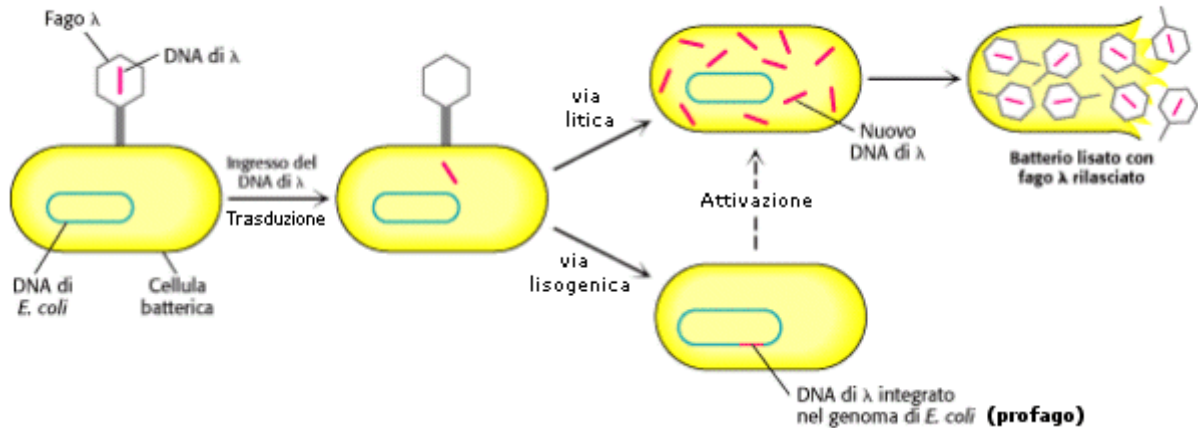
Un'importante famiglia di vettori genici è costituita dai **vettori virali**. I virus sono costituiti da un involucro di proteine (**capside**) di ridottissime dimensioni al cui interno è racchiuso il DNA virale contenente solo le informazioni essenziali e quindi non possono riprodursi da soli. Per farlo devono penetrare all'interno di una cellula ed utilizzarne le strutture di sintesi. Quando un virus infetta una cellula, integra il suo DNA con il genoma cellulare. In questo modo la cellula esprime le informazioni virali e sintetizza centinaia di copie del virus. Durante questo processo possono avvenire scambi tra il DNA virale ed il DNA cellulare. In laboratorio è possibile pilotare questo fenomeno di ricombinazione tra i due genomi, al fine di trasferire geni particolarmente interessanti nelle cellule. Per far ciò, si sostituiscono alcuni geni del virus con geni utili, di qualunque provenienza, ed un gene marcatore per verificare l'avvenuto trasferimento. Il virus modificato è ancora in grado di infettare la cellula, ma, anziché sfruttarla e distruggerla, la arricchisce delle nuove caratteristiche desiderate. Ogni virus utilizza le proteine del suo capsido per riconoscere ed infettare un particolare tipo di cellula.

I vettori virali sono utilizzati soprattutto per introdurre geni esogeni nei batteri (in alternativa ai plasmidi) e nelle cellule eucarioti animali.

I virus che infettano i batteri sono detti **batteriofagi** o **fagi**. Quando un fago infetta un batterio può acquisirne frammenti di DNA che vengono ceduti alla cellula batterica ricevente durante il successivo processo di infezione. Il trasferimento di materiale genetico da un batterio ad un altro tramite fagi è noto come **trasduzione**. La trasduzione è dunque una sorta di trasformazione batterica mediata da virus. I biologi molecolari sfruttano dunque questa capacità dei virus per utilizzarli come vettori genici. Alcuni fagi (Lambda ed M13) sono stati adattati alle esigenze dei biologi molecolari che ne hanno opportunamente modificato il DNA

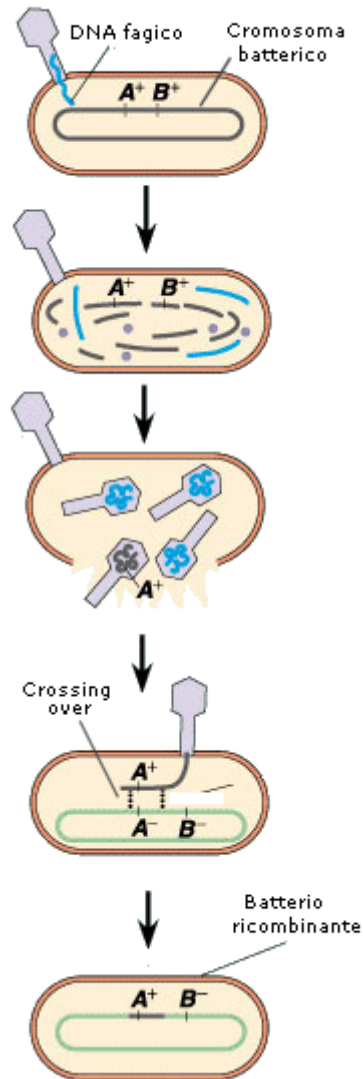
per dotarlo di specifici siti di restrizione ed hanno eliminato quella parte del genoma non indispensabile per la replicazione. Il DNA virale di un fago, una volta penetrato in una cellula batterica, può integrarsi nel cromosoma batterico e rimanere in fase latente (profago) per molto tempo senza interferire sulla vita della cellula (**ciclo lisogenico o lisogeno**) oppure può attivarsi ed utilizzare le strutture della cellula batterica per riprodursi e distruggere la cellula ospite (**ciclo litico**).

Ciclo vitale del batteriofago

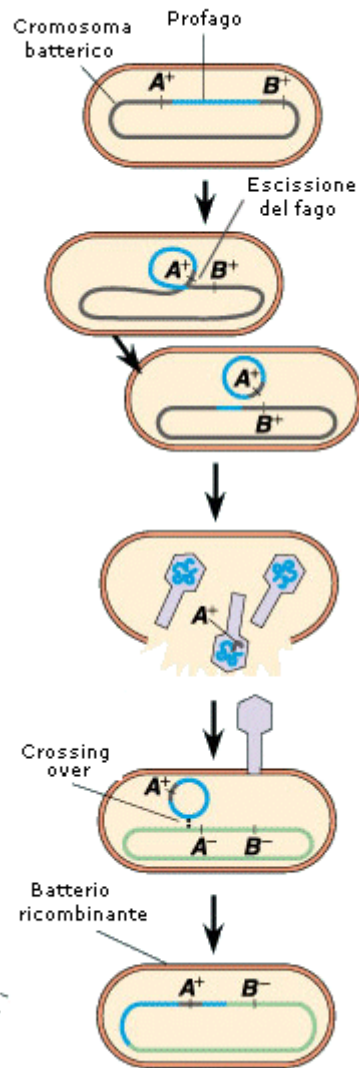


I fagi che causano la morte dei batteri per lisi cellulare sono detti **virulenti** (solo ciclo litico), mentre i fagi che riescono a stabilire un rapporto di simbiosi con l'ospite si dicono **temperati** (alternanza ciclo litico e lisogenico), come ad esempio il fago λ , ampiamente utilizzato come vettore genico. Vi sono due modalità di trasduzione. Nel corso del **ciclo litico** di molti virus il DNA della cellula ospite si frammenta e quando vengono assemblate le nuove particelle virali, alcuni di questi frammenti di DNA, spezzati a caso, possono essere erroneamente racchiusi all'interno del capsido al posto del DNA virale (**trasduzione generalizzata**).

Trasduzione generalizzata



Trasduzione specializzata

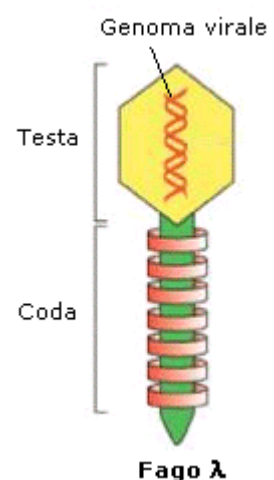


Nel corso del ciclo lisogenico il profago può staccarsi dal cromosoma batterico in cui si era integrato (**escissione**) portandosi via un frammento di DNA batterico ad esso adiacente (**trasduzione specializzata**).

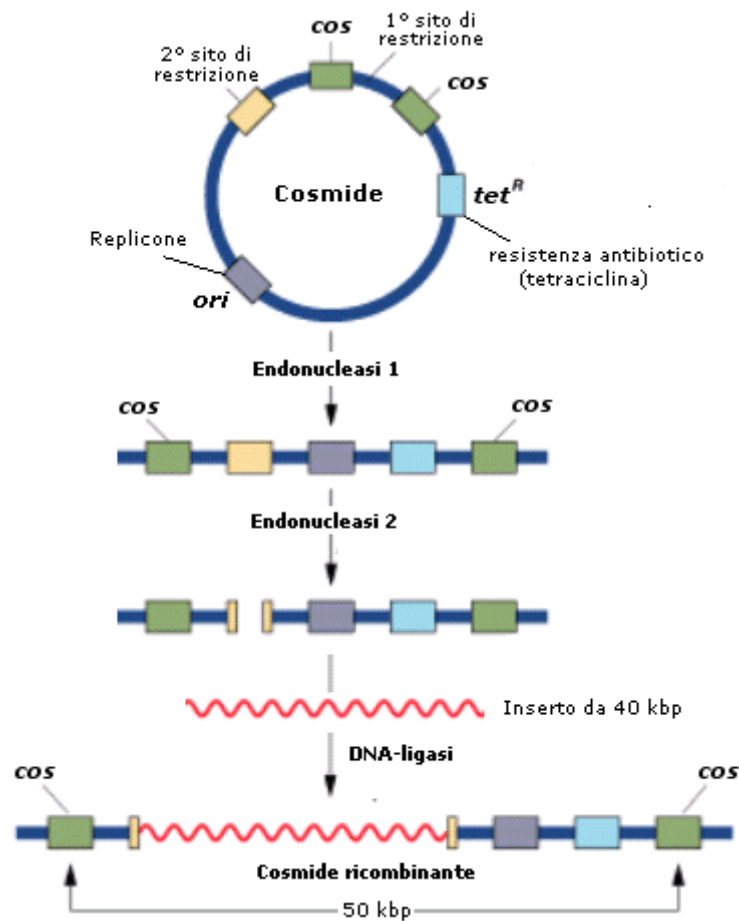
Il **fago λ** è utilizzato per clonare frammenti di DNA lunghi fino a 25 kbp. Normalmente il genoma del fago è lungo 49 kbp ma viene ridotto eliminando la porzione centrale con enzimi di restrizione che lasciano estremità coesive, lo stesso enzima con cui si taglia il frammento da clonare che vi si lega. Il profago integrato nel genoma si libera in seguito a danni del DNA. Prolifera a spese dell'ospite e lisa la cellula infetta liberando circa 100 virioni

8.3.3 Cosmidi

Il DNA del fago λ , isolato dalle particelle virali è una molecola lineare con estremità 5'-sporgenti di 12 nucleotidi, dette **terminali coesivi** (*cos*). Le estremità *cos* circolarizzano subito dopo l'infezione della cellula ospite, grazie alla DNA ligasi di *E. coli*. Oltre ad essere importanti per la sopravvivenza di λ all'interno di *E. coli*, le estremità *cos* giocano un ruolo importante per l'impacchettamento del DNA nei virioni e per lo sviluppo di vettori artificiali, i **cosmidi**, che possono trasportare inserti di DNA di grandi dimensioni (30-45 kbp).



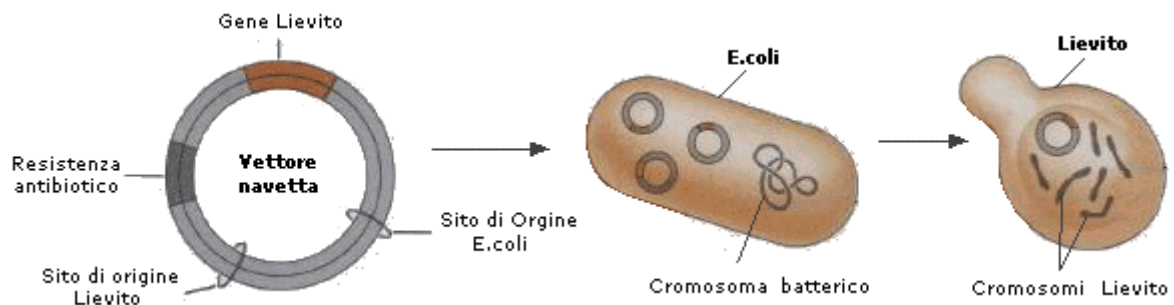
I cosmidi sono ibridi tra plasmidi (replicone, resistenza ad antibiotici) e le estremità *cos* del fago λ . La capacità massima degli inserti (45 kbp) è limitata dalle dimensioni della testa di λ .



Il cosmide ricombinante viene poi impacchettato in particelle fagiche in vitro, posto che vengano forniti i precursori delle teste, le code e le proteine per il montaggio. Il cosmide ricombinante viene successivamente introdotto nel batterio per trasduzione.

8.3.4 Vettori navetta (shuttle)

I vettori navetta sono vettori ingegnerizzati compatibili con cellule diverse, ad esempio batteri/lieviti o batteri/animali. In genere è fornito di due siti di replicazione, ognuno dei quali è riconosciuto e funziona su di un ospite cellulare diverso. Un vettore di questo tipo consente ad esempio la manipolazione del vettore nelle cellule batteriche ed il successivo trasferimento nelle cellule umane dove poter effettuare le analisi di interesse.



8.3.5 Vettori del lievito

Il lievito *Saccharomyces cerevisiae* rappresenta per gli eucarioti ciò che *E.coli* è per i procarioti. *S.cerevisiae* possiede un plasmide naturale di 2 μ m di circonferenza (**Plasmide 2 μ m**) che può

essere utilizzato come vettore genico. Questo plasmide è stato variamente manipolato per ottenere vettori artificiali di lievito. Ad esempio, l'aggiunta al plasmide di un centromero proveniente da un cromosoma del lievito stesso garantisce che, durante la divisione cellulare del lievito i plasmidi in esso inseriti vengano ripartiti equamente in tutte le cellule che si formano (il fuso riconosce il centromero e tratta i plasmidi come cromosomi).

Se oltre al centromero si aggiungono al plasmide, dopo averlo aperto, anche dei telomeri si ottiene un vettore chiamato Cromosoma artificiale di lievito (**YAR**).

Se questo vettore contiene le origini di replicazione del lievito (**sequenze di replicazione autonome, ARS**), durante la divisione cellulare si comporta come un piccolo cromosoma di lievito.

8.3.6 Cromosomi artificiali

Oggi sono stati messi a punto cromosomi artificiali anche per batteri e mammiferi che contengono gli elementi genetici utili per la stabilità e la funzionalità del cromosoma (telomeri, centromeri). Con essi è possibile utilizzare i batteri per clonare grossi pezzi di DNA (200-500 kbp).

Sono cromosomi artificiali:

- YAC, cromosomi di lievito (*Yeast Artificial Chromosomes*)
- BAC, cromosomi batterici
- MAC, cromosomi di mammifero
- PAC, cromosomi P1

8.4 Piante transgeniche

Le cellule vegetali sono particolarmente resistenti alla trasformazione perché sono rivestite esternamente da una spessa parete cellulare. La principale tecnica di modificazione genetica di vegetali è legata all'attitudine naturale del batterio *Agrobacterium tumefaciens* di infettare piante e causare una crescita paragonabile a quella tumorale negli animali, formando una moltiplicazione incontrollata delle cellule infettate entro cui il batterio si può riprodurre. *A. tumefaciens* contiene un plasmide (**plasmide Ti**, Tumor inducing) che può essere trasferito all'interno della pianta infettata ed integrare nel genoma della stessa la **regione T-DNA** (DNA che induce il tumore). Questo gene produce la proliferazione cellulare, che ospita il batterio e ne fornisce nutrienti per la crescita.

I biologi molecolari sono in grado di creare una popolazione di *Agrobacterium* che abbia nel T-DNA, al posto dei geni che causano il tumore, il gene che si desidera trasferire nella pianta. Il batterio modificato viene poi utilizzato per infettare alcuni frammenti di tessuto vegetale. Le cellule che ricevono il plasmide T iniziano a dividersi producendo calli (masserelle di cellule indifferenziate) visibili ad occhio nudo. Frammentando il callo e trattandolo con una miscela calibrata di ormoni vegetali si rigenerano le pianticelle che possiedono il gene nuovo (transgeniche). Questo sistema rapido, semplice ed efficiente, funziona tuttavia solo con piante dicotiledoni (es. pisello, fava, soia, lenticchie, ecc.) e non con le monocotiledoni, famiglia che comprende i cereali e quindi molto importante dal punto di vista economico.

Per introdurre geni esogeni in piante monocotiledoni si utilizzano il metodo biobalistico o il metodo dei protoplasti.

Il **metodo biobalistico** (anche detto **gene gun**, *pistola a geni*), permette di "sparare" ad altissima velocità microproiettili di oro o tungsteno ricoperti di DNA all'interno delle cellule vegetali. Tale metodo è ampiamente usato, ad esempio per la produzione del più comune cereale OGM, il *mais BT*.

Con il **metodo dei protoplasti** le cellule vegetali sono trattate con enzimi litici (cellulasi) che sciolgono la parete cellulare, trasformando le cellule in protoplasti. Questi sono più facili da trasformare, potendo assorbire DNA nudo, soprattutto se vengono stimolati elettricamente (elettroporazione).

8.5 Animali transgenici e terapia genica

Gli animali possono essere geneticamente modificati in modo del tutto naturale attraverso le infezioni virali. La modificazione genetica, in ogni caso, avviene solo se il virus penetra nella cellula bersaglio, senza risposta del sistema immunitario ed il suo genoma penetra fino al nucleo di essa.

La proprietà dei virus di integrarsi con il genoma della cellula animale (provirus) sono sfruttate dai ricercatori per progettare vettori in grado di modificare in modo controllato il genoma delle cellule animali. In medicina, questa proprietà ha aperto la strada alla **Terapia genica** che consentirebbe di *sostituire* frammenti di genoma mutato nei pazienti, agendo proprio sulle cellule adulte che hanno subito mutazioni. Le mutazioni prodotte dalla terapia genica sono dunque totalmente a carico della linea somatica e non di quella germinale.

8.6 Selezione delle cellule transgeniche

Naturalmente durante le operazioni di transgenesi alcune cellule possono non introdurre i vettori. Bisognerà perciò eseguire una selezione che dovrà eliminare le cellule che non hanno introdotto il vettore. Sarà sufficiente trattare le cellule con l'antibiotico, il cui fattore di resistenza è presente nel vettore utilizzato. Le cellule che hanno incorporato il vettore, cresceranno nel terreno contenente l'antibiotico, mentre le altre moriranno.

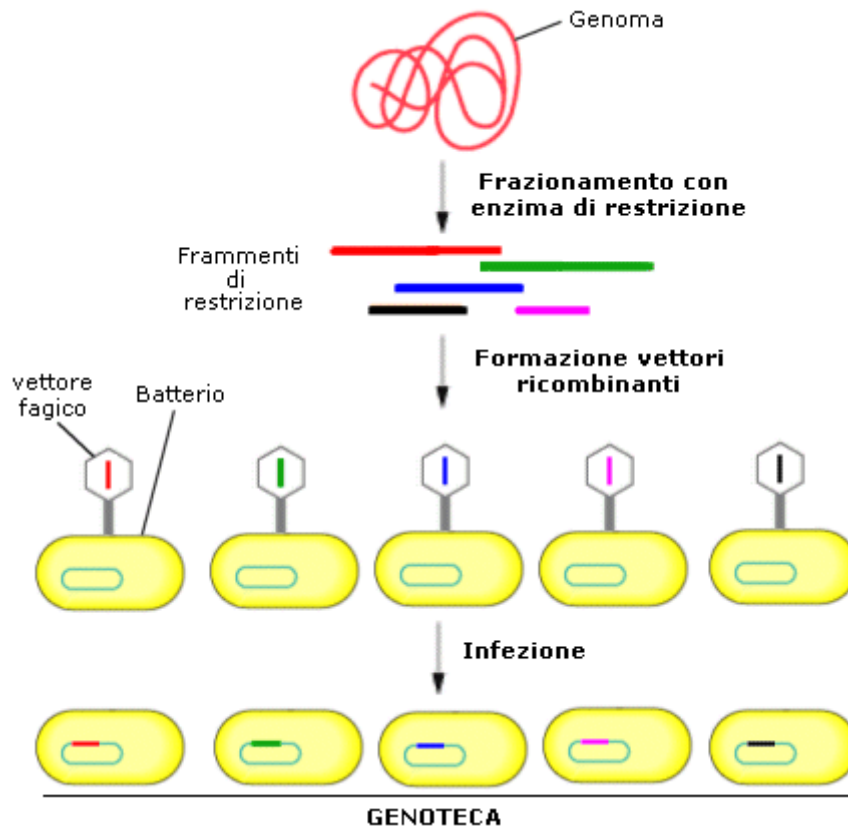
8.7 Librerie genomiche

Se il DNA bersaglio è già stato selezionato tra i frammenti di restrizione prima di essere integrato nel vettore o si possiede già il filamento di cDNA, le tecniche di clonazione e selezione sono relativamente semplici e si parla di **clonazione mirata**.

In genere è sufficiente analizzare pochi cloni ricombinanti per individuare il clone giusto che contiene il DNA bersaglio.

Se invece viene isolato e frammentato con enzimi di restrizione l'intero genoma di una cellula ed i diversi frammenti ottenuti vengono integrati ognuno in un vettore e successivamente clonati (**clonazione a raffica** o **shotgun**), si ottiene una popolazione complessa di batteri ricombinanti, ciascuno dei quali contiene un inserto diverso di DNA.

L'insieme delle colonie batteriche contenenti ognuno un diverso frammento di DNA costituisce una **libreria genomica** o **genoteca**.



Se ora si vuole individuare all'interno della genoteca la colonia batterica che contiene un particolare frammento genico sarà necessario usare una sonda che la riconosca e ce la renda evidente. Una **sonda** è costituita da una breve sequenza di una ventina di basi complementare al DNA di interesse, marcata mediante l'impiego di isotopi radioattivi o di un composto fluorescente. Una sonda viene in genere costruita tramite trascrizione inversa a partire dall'mRNA con formazione di cDNA (DNA complementare) oppure, conoscendo la sequenza amminoacidica della proteina codificata dal gene che ci interessa, è possibile assemblare direttamente un breve filamento di DNA sintetico.

Il processo di appaiamento della sonda al DNA di interesse è detto **ibridazione**. In generale si forma **DNA ibrido** quando si appaiano filamenti di DNA (o di DNA ed RNA) di provenienza diversa.

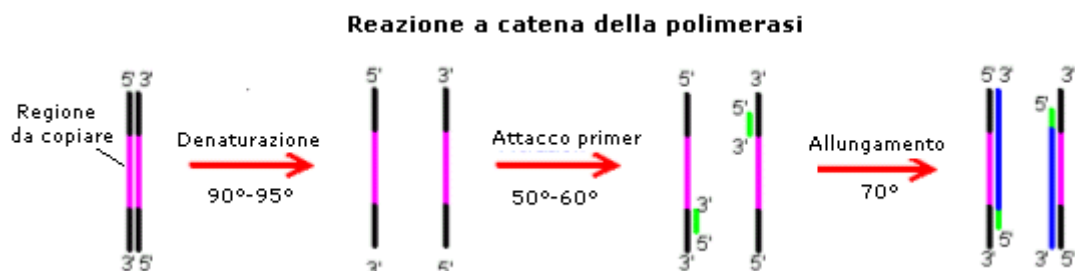
8.8 Amplificazione DNA: PCR

La clonazione del DNA tramite proliferazione di un batterio nel quale è stato introdotto un vettore ricombinante (plasmide o fago) contenente il segmento genico di interesse non è l'unica modalità per ottenere un numero elevato di segmenti di DNA identici (amplificazione DNA). Il metodo più rapido ed economico per ottenere molte copie di una sequenza di DNA è infatti la **reazione a catena della polimerasi (PCR)**. Si tratta di un sistema in vitro, che non prevede cioè l'uso di cellule ed è basato sull'attività dell'enzima **DNA-polimerasi**. Le DNA-polimerasi sono enzimi in grado di legare in successione ordinata i nucleotidi e di costruire quindi filamenti di DNA complementari ad un primo filamento che fa da stampo. Le DNA-polimerasi utilizzate attualmente sono tutte estratte da batteri che vivono in condizioni di temperatura estreme, in modo da essere termostabili. La "**Taq-polimerasi**" ad esempio, è in grado di lavorare ad alte temperature, fino anche a 92°C, temperatura alla quale avviene il processo di denaturazione del DNA. In passato questa DNA-polimerasi veniva estratta da *Thermophilus aquaticus*, un batterio che vive nelle acque termali calde. Attualmente viene invece prodotta in batteri geneticamente modificati per l'espressione e la sintesi dell'enzima. La PCR prevede che il DNA venga riscaldato per dividere i due filamenti della doppia elica (denaturazione), premessa indispensabile per poterlo copiare. Se la polimerasi usata non fosse termoresistente, ad ogni ciclo si dovrebbe aggiungere nuovo enzima per sostituire quello inattivato dal calore. Il campione di DNA da amplificare viene posto in una soluzione contenente DNA polimerasi, nucleotidi (dNTP, desossinucleotidi trifosfati) e primer.

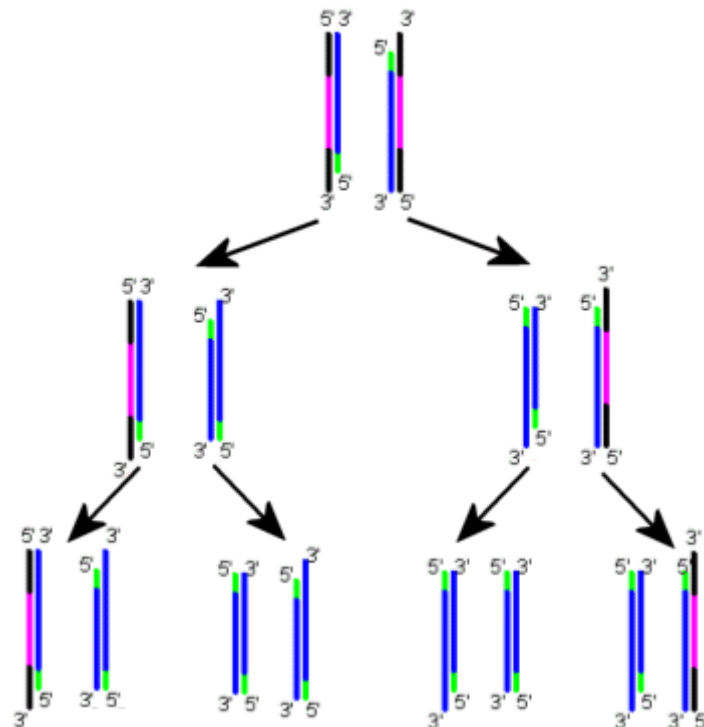
Un primer è un breve frammento di DNA a singola elica, un oligonucleotide di circa 20 basi, complementare alla porzione iniziale della sequenza di DNA che si vuole amplificare. Esso fornisce alla polimerasi un punto di innescio per la sintesi del nuovo filamento di DNA. Sono necessari due diversi primer, uno per ogni filamento, poiché dovranno posizionarsi all'estremità 3' di ogni filamento (la polimerasi allunga il nuovo filamento solo in direzione 5' → 3'). Il primer è aggiunto in grande eccesso al DNA affinché le due eliche parentali non si riappaino. La provetta con la miscela di reagenti è posta nella apparecchiatura per PCR, capace di cicli successivi di riscaldamento e raffreddamento a temperature specifiche per ogni reazione. Le fasi della PCR si possono così riassumere:

1. denaturazione del DNA a temperature di 90-95°C
2. attacco del primer (ibridazione) al sito bersaglio a temperature di 50-60°C
3. fase di allungamento, a temperature di circa 70°C, ad opera della polimerasi, in cui l'enzima aggiunge nucleotidi all'estremità 3' del primer fino a completare la catena

Il ciclo si ripete in genere per 20-30 volte e termina con un raffreddamento a 4°C per bloccare ogni reazione.



Ad ogni ciclo il numero di molecole aumenta esponenzialmente. Dopo n cicli si formano 2^n molecole di DNA.



La PCR risulta più rapida rispetto alla clonazione in vivo del DNA, ma a differenza di questa necessita della conoscenza delle sequenze nucleotidiche di ciascuna estremità del segmento di DNA che si vuole copiare.

8.9 Polimorfismo della lunghezza dei frammenti di restrizione (RFLP)

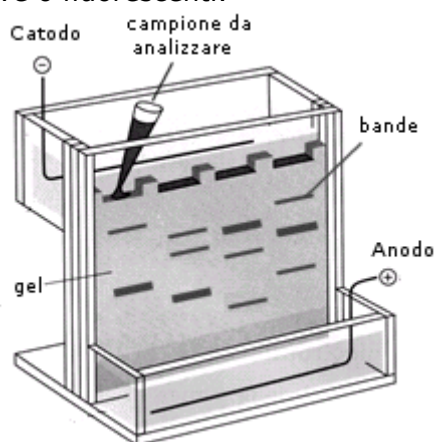
I siti di restrizione sono localizzati in punti differenti nel genoma di ogni individuo. Gli enzimi di restrizione tagliano perciò il DNA, producendo dei frammenti di restrizione che presentano lunghezze variabili da individuo ad individuo. Questa diversa distribuzione di frequenza della

lunghezza dei frammenti in ciascun individuo è nota come polimorfismo della lunghezza dei frammenti di restrizione (RFLP Restriction Fragments Length Polymorphism). Si chiamano infatti polimorfismi le differenze ereditarie che si trovano tra gli individui in una popolazione. Questa caratteristica può essere utilizzata per distinguere il DNA di un individuo da quello di qualsiasi altro. La distribuzione di frequenza delle lunghezze dei frammenti di restrizione è infatti caratteristica di ogni genoma.

Per separare i frammenti di diversa lunghezza e visualizzarne la distribuzione di frequenza si usano tecniche di elettroforesi.

L'**elettroforesi** è un metodo di separazione basato sulla diversa velocità di migrazione di particelle elettricamente cariche, depositate su di un opportuno supporto (carta o gel) se sottoposte ad un campo elettrico. L'elettroforesi è ad esempio impiegata nei comuni esami di laboratorio per quantificare le diverse classi di proteine del sangue.

Nel caso dei frammenti di restrizione, questi vengono depositati all'estremità di una lastra di gel. Poiché gli acidi nucleici hanno cariche negative, i frammenti migreranno verso il polo positivo. La velocità di migrazione dei frammenti di DNA è inversamente proporzionale al logaritmo della loro lunghezza. Al termine della corsa elettroforetica, DNA di lunghezza diversa sono risolti in bande di diverso peso molecolare (una sorta di codice a barre), che si possono visualizzare con sonde radioattive o fluorescenti.



In origine la tecnica RFLP fu messa a punto e viene ancora utilizzata per evidenziare un polimorfismo consistente nella presenza o assenza di un sito di restrizione, dovuto a mutazioni che vanno a colpire il sito di restrizione stesso facendolo scomparire se esiste, o creandone uno nuovo. Ad esempio, se l'allele di un difetto genetico genera rispetto a quello sano frammenti di restrizione diversi, è possibile usare questa tecnica per evidenziarne la presenza in un genoma. Oggi però il termine ha acquisito un significato più ampio, poiché sono stati evidenziati dei tratti di DNA in cui, pur non essendovi mutazioni nei siti di restrizione, vi sono tuttavia polimorfismi di lunghezza dei frammenti.

Queste regioni altamente polimorfiche del genoma umano possono essere utilizzate per confrontare due campioni di DNA e verificare se provengono dal medesimo individuo (test legali e giudiziari in casi di delitti) o da individui imparentati (test di paternità)

L'impiego di enzimi di restrizione su DNA appartenenti a individui diversi determina infatti miscele di sequenze di DNA di lunghezze diverse e quindi tracciati elettroforetici diversi. Si parla di **impronte digitali genetiche** o **DNA fingerprinting**. L'analisi del DNA ricavato da sangue o altri tessuti consente di dirimere questioni legali, consentendo di attribuire ad una persona campioni biologici quali sangue, pelle, sperma, capelli e così via.

Nell'uomo, le regioni del DNA usate comunemente per ottenere il **profilo genetico** di un individuo si trovano su cromosomi 1, 2, 4, 5, 10 e 17 e sono costituite da **regioni ripetitive** o **DNA in tandem** o **STR** (Short Tandem Repeats) (**microsatelliti** e **minisatelliti**). Per sequenze ripetute in tandem si intende una stessa sequenza ripetuta molte volte di seguito, per esempio: ATGCC ATGCC ATGCC ATGCC, dove ATGCC è ripetuta in tandem quattro volte.

Si tratta di regioni altamente polimorfiche in lunghezza e amplificabili a partire da primer di circa 20 bp tramite PCR.

I microsatelliti consistono in sequenze ripetute in tandem in cui la sequenza ripetuta ha una lunghezza da 2 a 6 paia di basi, mentre nei minisatelliti l'unità ripetuta è composta da 10 a 200 paia di basi.

Dato che si conosce la sequenza amplificata e la natura della ripetizione, dalla lunghezza del frammento amplificato si può dedurre quante ripetizioni esso contenga, e quindi di quale variante si tratti.

Ciò che si confronta tra due campioni, sono le bande visibili su un gel e corrispondenti al frammento di restrizione marcato con una sonda radioattiva o luminescente.



8.10 DNA ricombinante e principio di precauzione

Molte persone, specialmente in Europa, considerano gli OGM un potenziale pericolo per l'ambiente e per la salute, sebbene esistano ormai migliaia di studi sulla loro sicurezza e non siano emersi dati significativi da un punto di vista scientifico.

Il primo OGM fu ottenuto nel 1973 da Stanley Cohen e Herbert Boyer (inserimento in *E. coli* del gene per la resistenza all'antibiotico canamicina prelevato da *Staphylococcus aureus*).

L'anno dopo la comunità scientifica si autoimpose una moratoria internazionale sull'uso della tecnica del DNA ricombinante. Questo permise di valutare lo stato della nuova tecnologia ed i possibili rischi, attraverso un approccio precauzionale. La conferenza che raccolse i risultati ottenuti si tenne ad Asilomar in California e concluse che gli esperimenti sul DNA ricombinante potessero procedere a patto che rispettassero severe linee guida, poi redatte dal *National Institute of Health* (NIH) ed accettate dalla comunità scientifica.

Queste linee guida sono tuttora la base che ispira tutte le ricerche di laboratorio che riguardano esperimenti di trasformazione genica e le normative che presiedono all'uso commerciale ed al rilascio ambientali di tali organismi nell'ottica di consentire l'utilizzo solo di varietà e animali che siano stati riconosciuti sicuri per l'ambiente e per il consumo umano e animale.

Ad oltre 30 anni dalla Conferenza di Asilomar la tecnica del DNA ricombinante ha mostrato più benefici che rischi. Ad oggi infatti non è noto alcun problema specifico legato ad essa.

Nonostante ciò in gran parte dell'opinione pubblica sono diffusi i timori che la manipolazione del genoma possa comportare delle conseguenze non previste, sia rispetto alla modificazione dell'alimento (e quindi alle conseguenze sulla salute umana) sia rispetto all'interazione con le altre specie viventi e quindi alle conseguenze sull'ambiente.

Contro la produzione e l'introduzione degli OGM viene normalmente invocato il cosiddetto **principio di precauzione**.

Il principio di precauzione trova la sua prima formulazione ufficiale nella "Dichiarazione di Rio", durante la Conferenza sull'Ambiente e lo Sviluppo delle Nazioni Unite del 1992, che all'articolo 15 recita:

«Ove vi siano minacce di danno serio o irreversibile, l'assenza di certezze scientifiche non deve essere usata come ragione per impedire che si adottino efficaci misure di prevenzione della degradazione ambientale»

Successivamente l'Unione Europea, nel recepire queste indicazioni nella sua normativa, ne ha allargato il campo di applicazione alla politica di tutela dei consumatori, della salute umana, animale e vegetale, ribadendo che «Il ricorso al principio di precauzione trova applicazione qualora i dati scientifici siano insufficienti, inconcludenti o incerti e la valutazione scientifica

indichi che possibili effetti possano essere inaccettabili e incoerenti con l'elevato livello di protezione prescelto dall'Unione europea»

La formulazione del principio di precauzione è tuttavia talmente ambigua e generica da consentire interpretazioni diverse ed opposte. Si tratta infatti di capire cosa debba intendersi per "assenza di certezze scientifiche" e per "efficaci misure di prevenzione".

Nella sua applicazione più integralista al problema della tecnologia del DNA ricombinante, il principio di precauzione afferma che, poiché non esistono dati scientifici sufficienti ad affermare con certezza che gli OGM non sono dannosi per l'uomo e per l'ambiente, gli OGM non devono essere autorizzati. In altre parole si afferma che una mancanza di prove di dannosità non è sufficiente a garantire la non dannosità ("l'assenza di prove non è prova di assenza" disse Carl Sagan).

A ben guardare viene qui ribaltato uno dei cardini del diritto. La norma che recita "*innocente fino a prova contraria*" viene sostituita da "*colpevole fino a prova contraria*".

Il problema è che la scienza, per sua natura, non è in grado di fornire risposte certe e questa "incertezza" risulta particolarmente pesante quando si tratta di descrivere e prevedere il comportamento di sistemi altamente complessi ed interagenti come sono appunto gli ecosistemi.

In questa situazione è ovviamente difficile capire quando si possa affermare di avere una quantità di dati sufficiente per esprimere un giudizio ponderato su una specifica tecnologia. In realtà, tutti i giorni si prendono decisioni, o si scelgono opzioni, in base a una ragionevole valutazione del rapporto rischi/benefici, dando un peso e un valore ai dati a seconda delle priorità definite dalle normative esistenti. Se si dovesse prendere una decisione solo sulla base della prova assoluta di assenza di rischio, qualsiasi società si bloccherebbe nel suo sviluppo tecnologico e sociale. Non esiste infatti azione umana che non comporti, in potenza, qualche rischio. L'applicazione del principio di precauzione risulta invece ragionevole quando viene applicato al fine di escludere la presenza, per le nuove tecnologie, di problemi potenzialmente maggiori rispetto a quelli esistenti per le tecnologie o prodotti che si intendono sostituire.

È inoltre da sottolineare che non esistono tecnologie, anche semplici, che non comportino possibili effetti collaterali, per cui il rischio zero non può essere usato come parametro di valutazione in quanto impossibile da accertare.

L'assenza di "certezze scientifiche" non significa comunque che, compatibilmente con lo stato attuale delle conoscenze, non sia possibile dare delle risposte a molti dubbi e timori che accompagnano l'introduzione degli OGM. È ovvio che se le nostre conoscenze in futuro si modificheranno, potranno di conseguenza modificarsi anche le nostre valutazioni su questa tecnologia.

Tra le varie fonti di preoccupazione le più frequenti riguardano la possibilità che gli OGM

- si comportino come specie invasive (superinfestanti), che si affermano nell'ecosistema a danno di altre specie e varietà,
- riducano la biodiversità.
- inducano resistenza agli antibiotici in microrganismi patogeni per l'uomo,
- modifichino il patrimonio genetico di chi se ne alimenta
- contaminino prodotti non-GM
- siano pratiche contro natura
- siano tossici o allergenici e quindi pericolosi per la salute

Vediamo le risposte che la scienza può dare

Le biotecnologie sono contro natura?

Dal dibattito sulle biotecnologie emerge spesso una condanna morale di questa tecnologia. La modifica diretta del DNA ha dato a molti l'impressione di violare un limite imposto dalla natura. Gli OGM sarebbero "contro natura".

In realtà, la modifica del DNA degli organismi viventi a opera dell'uomo, ha origini antiche e coincide con la nascita stessa dell'agricoltura e della domesticazione di piante e animali. L'intervento umano è stato tanto rilevante da rendere la maggior parte delle piante coltivate e degli animali completamente inadatti a vivere negli ecosistemi naturali. Alcune di queste piante

sono state modificate in modo così significativo da presentare una bassissima fertilità che ne limita la dispersione nell'ambiente (le banane coltivate vengono riprodotte esclusivamente tramite talea in quanto prive di semi). Alcune specie sono state incrociate con altre molto distanti geneticamente per trasferire geni utili. La segale è stata incrociata con il frumento per ottenere il triticale, un cereale che non esiste in natura. In questo contesto, se gli OGM sono da considerare innaturali, lo sono anche l'agricoltura e l'allevamento che nei secoli hanno invaso habitat prima dominati da specie selvatiche, rimpiazzandole con pochissime specie coltivate, frequentemente importate da altri continenti. Va aggiunto inoltre che le modifiche introdotte dall'uomo nel genoma di specie utili sono state per lo più casuali e inconsapevoli, con effetti sulla pianta, sull'ambiente e sull'uomo largamente non prevedibili e non ancora studiati, ma comunque considerati "normali".

Le nuove tecnologie, mimando processi che avvengono già in natura (è possibile infatti ritrovare le tracce del trasferimento di DNA da batteri a piante e viceversa, così come in altri organismi), permettono modifiche mirate del DNA, entro certi limiti prevedibili e controllabili.

Gli alimenti GM possono modificare il DNA di chi se ne ciba?

Una persona ingerisce circa un grammo di DNA al giorno tramite l'alimentazione. A contatto con i tessuti dello stomaco il DNA viene ridotto in piccoli frammenti (in genere minori di 400 paia di basi). In alcuni esperimenti su ratto si è osservato come una piccola parte del DNA così frammentato (inferiore allo 0,1%) può essere assorbita dalle cellule dell'intestino e rimanere per qualche ora, prima di essere degradata, nel sangue o nel fegato, senza comportare conseguenze. In ogni caso il DNA transgenico non è chimicamente differente dal DNA non-transgenico. Se ne deduce che se potesse integrarsi al DNA umano, modificandolo, potrebbe farlo anche il DNA contenuto in qualsiasi altro alimento.

Gli OGM sono dannosi (tossici o allergenici) per la salute umana o animale?

Gli OGM, prima di ricevere l'autorizzazione alla coltivazione e alla commercializzazione, devono superare un elevato numero di test di sicurezza. I test richiesti partono dallo studio della nuova proteina prodotta dalla pianta transgenica. Il DNA inserito (transgene) si "esprime", infatti, tramite la produzione di una proteina, responsabile della caratteristica desiderata (ad es. resistenza agli insetti, tolleranza a un erbicida, maggior contenuto di vitamina, ecc.).

Se i test danno esito negativo, cioè se la proteina non è tossica o allergenica, si passa a valutare la "sostanziale equivalenza" della pianta transgenica nei confronti di piante analoghe non transgeniche. La sostanziale equivalenza richiede test nutrizionali condotti su animali. Se da questa analisi non emergono differenze significative il nuovo OGM viene considerato "sostanzialmente equivalente" alle varietà convenzionali. Va aggiunto anche che i prodotti autorizzati vengono monitorati per almeno 3 anni negli Stati Uniti e per tutta la durata dell'autorizzazione nell'Unione Europea, al fine di riscontrare eventuali effetti indesiderati sulla salute o sull'ambiente.

Gli OGM possono diffondere resistenze agli antibiotici rendendo più difficile la cura delle malattie?

Alcuni OGM in commercio, oltre al gene di interesse, contengono un gene che conferisce la resistenza a un antibiotico. L'uso del marcatore di resistenza è necessario per verificare che il trasferimento genico sia avvenuto correttamente. Il 90% delle varietà transgeniche autorizzate hanno il gene che conferisce resistenza alla kanamicina. Il restante 10% è resistente ad altri due antibiotici: ampicillina e igromicina. Questi tre geni di resistenza sono comunque molto diffusi tra i microrganismi presenti naturalmente nei suoli. Inoltre, kanamicina e igromicina non sono utilizzati in medicina, a causa della loro tossicità. Per l'ampicillina la situazione è diversa: questo antibiotico è ancora utilizzato, sebbene il suo impiego sia in declino a causa della diffuse resistenze naturali (più del 50% degli enterobatteri è resistente a questo antibiotico). La probabilità quindi che un agente patogeno per l'uomo acquisisca il gene di resistenza dai batteri già presenti nell'intestino o nel suolo è di gran lunga superiore alla probabilità di acquisirlo da alimenti ricavati da piante transgeniche. Anche nel caso in cui questo trasferimento dovesse avvenire, non si tratterebbe comunque di resistenze ad antibiotici utilizzati comunemente in terapia. In ogni caso, la normativa europea ha stabilito che a partire dal 2006 non saranno più autorizzati OGM che contengano geni di resistenza agli antibiotici utilizzati in terapia.

Cos'è la "contaminazione" genetica?

È diventato uso comune parlare di "contaminazione" genetica quando vengono ritrovate tracce di OGM in sementi o prodotti non-GM. Il termine è fuorviante, perché suggerisce un'intrinseca pericolosità dei prodotti GM, non tenendo conto che gli OGM non possono essere commercializzati se non sono stati riconosciuti sicuri. Al fine di evitare fraintendimenti, sarebbe quindi più appropriato parlare di "*presenza accidentale*" di OGM in lotti di semi non OGM o in prodotti non OGM. Si è finora riscontrato che la presenza accidentale di OGM in prodotti non OGM è inferiore allo 0,1%, percentuale molto più bassa rispetto alle soglie normalmente tollerate in agricoltura per la presenza di varietà tossiche (come la colza HEAR - 2%). Pertanto, trattandosi di organismi di cui è stata verificata la non dannosità, non dovrebbero generare alcuna problematica aggiuntiva.

Le piante GM possono diventare infestanti?

Il presupposto per la comparsa di nuove piante infestanti è che una pianta acquisisca resistenza a insetti e malattie o che si modifichi fino a presentare una serie di nuovi caratteri di invasività (ovvero la capacità di diffondersi autonomamente anche fuori dal campo coltivato) per mutazione spontanea o per ibridazione con altre piante selvatiche o coltivate.

Gli OGM, da quanto emerso dagli studi fino ad oggi pubblicati, non sono di per sé più infestanti delle colture convenzionali. Le piante coltivate infatti necessitano per sopravvivere di cure costanti (devono essere seminate, protette dalle malattie e dagli agenti avversi) e non disperdono il seme quando mature, come invece accade per le piante selvatiche ed infestanti.

È inoltre provato che quando vengono disperse nell'ambiente naturale tendono a scomparire in 2-3 generazioni (come dimostrato per mais, colza, patata e bietola. Gli ibridi ottenuti dall'incrocio tra una pianta selvatica (infestante o meno) e una pianta coltivata sono spesso poco vitali e possiedono una bassa fertilità. Nei casi in cui gli ibridi siano fertili e acquisiscano resistenze a malattie o ad altre avversità ambientali, essi potrebbero acquisire una maggiore invasività. Il rischio connesso è però il medesimo sia per le piante GM, sia per le piante non-GM. Un esempio spesso citato riguarda la resistenza agli erbicidi. L'eventuale ibridazione tra varietà resistenti (coltivate) e non resistenti (selvatiche o coltivate) potrebbe portare, infatti, alla creazione di piante infestanti resistenti all'erbicida, costringendo l'agricoltore a usare nuovi prodotti per il loro controllo.

Quale impatto hanno gli OGM sulla biodiversità?

L'impatto degli OGM sulla biodiversità è un tema complesso. Qualunque tipo di intervento umano o anche semplici eventi naturali hanno un impatto sulla biodiversità.

Da quando l'agricoltura esiste (circa 12-13.000 anni) l'uomo ha condotto scelte o selezioni tra i genotipi delle specie da lui ritenute interessanti. Il problema della riduzione della biodiversità non è quindi nuovo. La ricerca di piante ad alta produttività, per esempio, ha ridotto radicalmente il numero di specie utilizzate a scopo alimentare. Attualmente 20 specie vegetali forniscono il 90% del cibo umano e quattro di esse arrivano da sole al 50% (frumento, mais, riso e patata). Questo processo non viene necessariamente amplificato dagli OGM.

L'ecosistema agricolo è stato inoltre profondamente modificato dall'introduzione di coltivazioni esotiche. Colture originariamente tipiche dell'America, come mais, patata e pomodoro, o dell'Asia, come soia, riso e kiwi, sono diffuse anche nell'ambiente europeo. Inoltre, con l'introduzione di specie in territori diversi da quelli nativi è stata spesso introdotta anche la flora selvatica affine a tale specie, immettendo così nell'ambiente anche le potenziali infestanti (e spesso anche i relativi parassiti). La coltivazione della soia, ad esempio, richiede dei Rizobi, batteri del terreno necessari al suo sviluppo, ma poco ancora oggi si conosce sull'impatto, a livello di biodiversità del suolo, dello spargimento di tali batteri.

Chiedersi se gli OGM siano una minaccia per la biodiversità ha poco senso. Più corretto sarebbe infatti domandarsi se questi organismi influiscono sulla biodiversità in modo diverso rispetto a quanto accade per le colture convenzionali.

Ma valutare l'impatto sulla biodiversità dell'introduzione di una nuova varietà (GM o meno) in agricoltura è comunque estremamente difficile, trattandosi di sistemi altamente complessi.

Da una parte, ad esempio, vi è la possibilità che geni di varietà commerciali (GM o meno) possano entrare a far parte del DNA di specie sessualmente compatibili. Questo fenomeno naturale può in teoria portare ad una diminuzione di biodiversità se vengono trasferiti agli ecosistemi naturali geni in grado di aumentare la competitività di questi ibridi a scapito di specie selvatiche. Dall'altra parte dobbiamo considerare che la mancanza di scambio genico è per altri versi pericolosa per la biodiversità. In definitiva, non ci sono ragioni per ritenere che la

diffusione di colture OGM debba essere considerata potenzialmente più dannosa, per la biodiversità, dell'introduzione di colture "tradizionali".

Problemi etici

Naturalmente le tecniche del DNA ricombinante hanno sollevato anche numerosi problemi etici, come ad esempio i dubbi sulla liceità della manipolazione dei geni umani e della loro introduzione in altri organismi e/o dell'introduzione di geni estranei in cellule e organismi umani (es. per terapie geniche). Ovviamente su questi aspetti la scienza non ha e non può avere risposte.

9 Evoluzionismo

Il termine "evoluzionismo" è molto spesso utilizzato come sinonimo di "evoluzione biologica" e rimanda alla teoria darwiniana dell'evoluzione delle specie per selezione naturale. Qui in effetti tratteremo di tale teoria, tuttavia la teoria della evoluzione della vita rappresenta solo un caso particolare all'interno di un "approccio evoluzionista" alla visione ed all'interpretazione scientifica del mondo.

L'idea di una natura dinamica contrapposta a una natura statica è una visione molto antica che ha generato polemiche e controversie sin dal tempo della prima speculazione greca intorno al mondo. Le due scuole di pensiero si possono esemplificare da una parte attraverso Parmenide, che fonda la sua filosofia sull'essere, immutabile, e dall'altra con Eraclito per cui tutto scorre continuamente (*pànta rèi*).

Questi due opposti modi di interpretare la realtà hanno percorso la storia del pensiero occidentale fino ai nostri giorni. Credere che la natura sia in continua trasformazione significa spostare l'attenzione dallo studio del mondo a quello delle "leggi" che regolano il mondo. Gli unici aspetti invariabili nell'universo che cambia sono le leggi fisiche del cambiamento (**attualismo**). L'idea che l'universo, gli astri, la Terra, le montagne, i mari, le specie animali e vegetali col tempo si trasformino, nascano e muoiano oggi ci può sembrare scontata ma, storicamente, per affermarsi ha dovuto sconfiggere un paradigma (= un modello esplicativo) **fissista e creazionista** molto forte, secondo il quale l'universo è stato fatto da Dio in modo definitivo e statico ed ogni cambiamento è un evento eccezionale e spesso catastrofico (teoria del **catastrofismo**) all'interno di un mondo fondamentalmente stabile.

Il concetto di evoluzione, però, contiene molto di più della semplice constatazione che tutto cambia e si trasforma, contiene anche una spiegazione di come avviene il cambiamento. L'affermarsi di concezioni evoluzionistiche è inoltre strettamente legata alla "**scoperta del tempo profondo**". Per gli uomini del Seicento la terra non aveva più di 6000 anni. Nel 1650 James Ussher, arcivescovo anglicano di Armagh, integrando considerazioni storiche, conoscenze sui cicli astronomici e diverse fonti di cronologia biblica, calcolò che la Genesi era iniziata la sera del 22 Ottobre 4004 a.C. e terminata il giorno dopo, Domenica 23 Ottobre (Adamo ed Eva erano stati cacciati dal Paradiso Terrestre lunedì 10 Novembre 4004 a.C., il Diluvio Universale avvenne nell'anno 2349 a.C. e l'arca di Noè approdò sul monte Ararat il Mercoledì 5 Maggio 2348 a.C.).

La difficoltà di concepire la storia della Terra secondo intervalli di tempo più estesi rendeva ovviamente difficoltosa una spiegazione di tipo evolutivo dei fenomeni naturali. L'evoluzionismo interpreta infatti i fenomeni del presente come il risultato del succedersi di piccole e lentissime variazioni, talmente lente da essere impercettibili per il singolo osservatore, ma che in tempi lunghissimi possono generare enormi cambiamenti.

Montagne, fiumi, stelle, pianeti, animali e piante hanno sempre avuto il medesimo aspetto, a memoria d'uomo e se la Terra ha solo 6000 anni è abbastanza comprensibile che il ritrovamento di fossili appartenenti ad organismi estinti e le grandi stratificazioni rocciose che sembravano indicare condizioni fisiche, chimiche e biologiche passate, completamente diverse da quelle attuali, venissero interpretate come la conseguenza di enormi e repentine catastrofi naturali.

Pensare la storia naturale come un lento processo evolutivo comportava dunque necessariamente una dilatazione del tempo.

Particolarmente interessante, da questo punto di vista, è il calcolo sull'età della Terra effettuato dal naturalista francese George-Louis Leclerc, Conte di Buffon (1707-1788). Nel 1778 Buffon ipotizzò che il sistema solare e quindi la Terra stessa si fossero formati a seguito di una

violenta collisione tra una cometa ed il Sole, causando l'emissione di una serie di "globi" di fuoco che raffreddandosi avrebbero dato origine ai futuri pianeti e satelliti. Dalla fonderia di sua proprietà, fece costruire dieci sfere di ferro di diametro variabile e sulla base del tempo necessario affinché queste sfere si raffreddassero, dopo essere state riscaldate, ed ipotizzando l'interno della Terra costituito nella quasi totalità da ferro, egli fece una stima dell'età della Terra intorno ai 75.000 anni.

Nella seconda metà del '700 l'origine organica dei fossili era ormai comunemente accettata e le scoperte paleontologiche avevano ormai provato che esseri vissuti in passato erano scomparsi. L'immagine di un mondo immutabile e relativamente giovane era stata ormai definitivamente compromessa. Le collezioni naturalistiche di principi e signori si arricchivano di fossili appartenenti ad animali "preadamitici".

L'interpretazione dei fossili fu d'altra parte un problema più volte affrontato nel passato. Già alcuni pensatori greci avevano correttamente compreso che i fossili rappresentavano resti di organismi viventi poi pietrificatisi. E per quanto Leonardo Da Vinci, in alcuni scritti rimasti per altro sconosciuti, ed altri studiosi dopo di lui (Girolamo Fracastoro - 1517, Gerolamo Cardano - 1552, Bernard Palissy - 1580, Robert Hooke - 1665, N. Steensen (Stenone) - 1669) ne avessero chiaramente sostenuto l'origine organica, i più ritenevano trattarsi di concrezioni inorganiche (lapides figurati), rocce che la natura aveva foggiate a forma di pesce o di conchiglia in virtù di una "forza plastica" (aura seminalis, aurea petrifica, spiritus lapidificus, succus lapidescens) legata agli influssi astrali, seguendo in questo un errore aristotelico che pesò sul pensiero scientifico fino alla prima metà del settecento.

In alternativa furono date le spiegazioni più fantasiose, da quella secondo cui le "pietre figurate" non erano altro che resti di pasti degli antichi, alla teoria della "vegetazione delle pietre", secondo cui queste germogliano come le piante, fino ad invocare scherzi di natura (lusus naturae) o, come molti credevano, semplicemente i resti del diluvio universale.

Il 1785 fu una tappa decisiva nella storia del pensiero evoluzionistico e nella conquista del "tempo profondo" grazie all'opera del geologo scozzese James Hutton.

9.1 James Hutton e l'uniformismo

James Hutton (1726-1797) è ritenuto il fondatore della moderna geologia. A lui si devono intuizioni e scoperte fortemente innovative per i tempi che egli presentò nel suo *Theory of the Earth* (1785). I punti di maggior interesse della sua teoria sono

- La storia della Terra può essere spiegata attraverso una teoria unitaria sulla base del ripetersi di semplici fenomeni geologici che si avvicinano uniformemente e ciclicamente in tutti i momenti della storia geologica e in tutte le parti del globo (**uniformismo**), escludendo il ricorso ad eventi straordinari o miracolosi. Il sistema di Hutton tendeva a immaginare la Terra come una newtoniana "macchina perfetta", regolata da leggi proprie ed immutabili, una macchina autoregolantesi e funzionante in tempi senza principio e senza fine, come l'universo degli astronomi
- Questi processi richiedono tempi lunghissimi. Il tempo geologico deve essere di gran lunga superiore alla capacità di immaginazione umana, non essendo possibile identificare le tracce né dell'inizio né della fine dei processi geologici.
- Fonda la teoria plutonista in contrapposizione alle ipotesi nettunistiche al tempo prevalenti.

La **teoria nettunista** di Werner assegnava un'origine marina a tutte le rocce. Solo più tardi Werner aggiunse alla sua classificazione le "serie vulcaniche", comprendenti però solo alcune colate di lava, ritenute il prodotto recente, e poco importante, della "cottura" di strati carboniosi ("fuochi superficiali per autocombustione dei carboni"). La teoria postulava un grande Oceano primitivo circondante una terra emersa di piccole dimensioni. Il ritiro progressivo di questo mare avrebbe determinato l'emergere di nuove terre e la conseguente deposizione di tutti i materiali della crosta terrestre.

Le ricerche e le osservazioni eseguite da Hutton in Scozia gli avevano reso evidente che non solo il granito era una roccia ignea (magma fuso solidificatosi), ma che era stato in grado di penetrare gli strati sedimentari sovrastanti (intrusioni). Osservando strati sedimentari verticali sovrastati da strati orizzontali (discordanza stratigrafica) Hutton rimase impressionato da ciò

che quella immagine gli suggeriva: il susseguirsi di mondi scomparsi, con gli strati verticali prodotti dalla sedimentazione di un antico mare, sollevati ed inclinati, poi erosi, poi di nuovo sommersi e ricoperti da altri strati sedimentari; a loro volta sollevati ed erosi. Hutton vedeva la terra come un pianeta dinamico che funzionava come una macchina azionata dal calore endogeno (da qui il termine **plutonismo**) e intuì che nessuna sorgente di calore superficiale sarebbe stata in grado di produrre i fenomeni vulcanici. In un ciclico ripetersi i fiumi erodevano i continenti e trasportavano i sedimenti negli oceani, mentre il calore profondo espandeva il pianeta, sollevando di nuovo i depositi marini compattati e li ritrasformava in continenti. Il sollevamento dei continenti (orogenesi) avrebbe prodotto strati inclinati e distorti. Una notevole anticipazione della moderna geodinamica e di ciò che noi oggi chiamiamo ciclo delle rocce.

Per i nettunisti la Terra non è molto antica. Le rocce, secondo Werner, sono state deposte, come precipitati chimici e come detriti sedimentari, come conseguenza del ritiro graduale di un Oceano primordiale (regressione), in un ordine ben preciso: a cominciare dai graniti e dagli gneiss primitivi fino ai più recenti strati sedimentari detritici. Secondo Hutton ed i plutonisti la Terra potrebbe invece aver attraversato un numero indeterminato di cicli di sollevamento e di erosione.

Hutton insiste su trasformazioni lente e regolari che hanno agito in passato ma sono tuttora operanti. I continenti attuali sono soltanto formazioni transitorie nell'immensità del tempo geologico. Non esistono vestigia di un inizio né prospettive di una fine.

In questo senso va interpretata la sua affermazione "il presente è la chiave per spiegare il passato" ed il suo atteggiamento non va confuso con l'"attualismo" che verrà più tardi introdotto da Lyell. La filosofia di Hutton è piuttosto quella dell'**uniformismo** ed in questo senso il suo modo di pensare (come quello di Newton, del resto) è fortemente venato di teismo. Come non rischiare di confondere, infatti, un Universo perfetto, eterno e autosufficiente con la figura stessa della Divinità?

Non a caso, anche per questo, e non solo per le sue affermazioni sulla antichità della Terra, Hutton fu aspramente accusato di eresia.

9.2 Charles Lyell e l'attualismo

Charles Lyell (1797-1875) raccolse ed approfondì la lezione uniformista di Hutton, argomentandola in modo dettagliato nei *Principles of Geology* (3 vol 1830-1833) che ebbero una influenza determinante sullo stesso Darwin, tanto che questi ne testimoniò più volte nei suoi scritti. Lyell anticipò, tra l'altro, pur non traendone le debite conseguenze, quasi tutti i principi cui Darwin dette forma nell'evoluzionismo, a cominciare da quella "guerra di natura" che rimanda alla darwiniana "selezione naturale". In geologia introdusse il principio dell'**attualismo** (gli eventi del passato si spiegano con forze ancora operanti e osservabili), principio che ricorda l'huttoniano "il presente è la chiave per spiegare il passato". Ma se per Hutton questo implicava "uniformità dei fenomeni" (di oggi e del passato), per Lyell è piuttosto uniformità delle leggi di natura.

Secondo Lyell le modificazioni avvenute sulla Terra nelle ere geologiche passate dovevano essersi verificate con le stesse modalità e con la stessa intensità degli eventi geologici osservabili nel presente. Il passato geologico può dunque essere compreso meglio in termini di processi naturali che ancora oggi possiamo osservare, quali sedimentazione nei corsi d'acqua, erosione eolica ed idrica, avanzamento o ritiro dei ghiacciai, vulcanesimo e sismicità. Non è necessario invocare catastrofi né ipotizzare che i processi attuali abbiano agito con maggiore intensità in tempi precedenti. I cambiamenti sono lenti e costanti (**gradualismo**) e se gli effetti sono stati assai pronunciati ciò è dovuto all'accumularsi, in tempi estremamente lunghi, di tanti piccoli eventi. Il fattore tempo è di fondamentale importanza poiché anche piccole variazioni, sommate per intervalli di tempo sufficientemente lunghi, possono produrre effetti enormi.

Il gradualismo era in palese contrasto con la teoria del **catastrofismo**, avanzata nel 1815 dal naturalista francese *Georges Cuvier* (1769-1832). Cuvier fu uno dei più celebri studiosi di fossili dell'epoca, fondatore della paleontologia dei vertebrati e giustamente famoso per le sue ricostruzioni di animali preistorici a partire da pochi frammenti ossei. Riteneva che i fossili appartenenti a specie non più esistenti, testimoniassero antiche estinzioni avvenute come conseguenza di catastrofi, la più recente delle quali era appunto il Diluvio.

Già alla fine del '700 William Smith, un ingegnere minerario, aveva scoperto che strati rocciosi diversi potevano esser distinti in base al loro contenuto fossilifero, anche nel caso in cui fossero simili per litologia. Cuvier interpretò queste brusche discontinuità tra i fossili di uno strato ed i fossili del successivo come una prova dell'esistenza di eventi catastrofici.

Cuvier combattè aspramente sia il gradualismo di Lyell che, ovviamente, le nascenti teorie dell'evoluzionismo biologico (**lamarckismo**). I punti principali delle sue critiche sono i seguenti:

- Gli organismi raffigurati negli affreschi egiziani sono gli stessi presenti attualmente, come testimoniano i reperti mummificati ritrovati nelle tombe egizie.
- Le varietà e le razze che si osservano in natura non originano specie nuove e quelle prodotte attraverso l'allevamento, se tornate allo stato selvatico, tendono a riassumere la forma originaria

9.3 Evoluzione biologica: i precursori

Verso la fine del '700 la maggior parte degli scienziati accettava ormai l'idea che la complessa storia della vita sulla terra si fosse necessariamente svolta nell'arco di tempi lunghissimi e che i fossili di organismi di cui non si aveva il corrispondente attuale, rappresentassero le vestigia di specie estinte. L'idea di una evoluzione biologica degli esseri viventi cominciava dunque ad avere un terreno fertile su cui crescere. Tuttavia, come abbiamo già avuto modo di dire, c'è differenza tra ipotizzare un'evoluzione biologica e fondare una teoria evolutiva che contenga al suo interno un meccanismo esplicativo delle modalità attraverso le quali l'evoluzione è avvenuta.

In questo senso le uniche due teorie evolutive avanzate furono il **lamarckismo** e il **darwinismo**. Ciò non toglie che l'idea di un'evoluzione biologica fosse precedente, anche se l'idea che risultò dominante fino alla prima metà dell'Ottocento fu quella della fissità delle specie, cioè della loro immutabilità e della loro formazione per intervento divino (**creazionismo fissista**). Il fissismo fu codificato dal naturalista svedese Carlo Linneo che nel 1751, nella sua opera *Philosophia botanica*, affermava che le forme viventi furono create per progetto divino e disposte in un ordine che si adattava a essere classificato ("*Species tot sunt diversae quot diversas formas ab initio creavit infinitum Ens*").

Il naturalista svedese ebbe il merito di creare un valido sistema di classificazione binomia (nome generico e nome specifico, *Homo sapiens*, *Drosophila melanogaster*) dei viventi. Le sue idee creazioniste determinarono tuttavia una resistenza della comunità scientifica alle ipotesi evoluzioniste.

In un'epoca in cui le verità scientifiche non potevano contraddire quelle religiose, il creazionismo fissista si accompagnava ad una visione finalistica della natura. Il **finalismo** della natura, il fatto cioè che gli esseri viventi possiedano delle strutture perfettamente adeguate per il compimento di certi scopi (gli uccelli hanno le ali per poter volare, i pesci le branchie per poter vivere nell'acqua e così via) era spiegato con l'intervento di Dio che aveva progettato la natura in modo perfetto (viviamo nel migliore dei mondi possibili). L'anatomia comparata, che studia le omologie tra le differenti specie - per esempio le ali degli uccelli, gli arti dei mammiferi e le pinne dei pesci - metteva in luce come Dio avesse utilizzato un solo progetto che aveva variato in tutti i modi possibili.

Scienziati come P. L. M. de Maupertuis (1698-1759) e filosofi come D. Diderot (1713-1784) erano tuttavia giunti ad una spiegazione che rovesciava l'apparente finalismo della natura. Le strutture degli animali sono perfette perché gli animali imperfetti e i "mostri" non sono sopravvissuti. La natura non è perfetta, i "mostri" nascono tutti i giorni, ma non possono sopravvivere né riprodursi (notevole anticipazione della "selezione naturale" di Darwin). Sviluppando queste considerazioni Maupertuis e Diderot arrivarono persino a prendere in considerazione l'idea di un prototipo di tutti gli animali che si sarebbe con il tempo variato in tutti i modi originando tutte le forme di vita presenti nel mondo.

Negli stessi anni, G. L. L. de Buffon (1707-1788), nella sua imponente *Storia Naturale* in 36 volumi, descriveva gli esseri viventi sottolineandone la trasformabilità. In polemica con Linneo, credeva che la classificazione degli esseri viventi fosse soltanto una comoda convenzione dell'uomo che non rispecchiava la realtà della natura. Le specie, infatti, avevano una storia di

incroci, di parentele, di estinzioni, di cambiamenti avvenuti a seconda del clima e dell'ambiente. Non era quindi possibile classificarle come qualcosa di immutabile e fisso. Se Buffon non accettò mai l'ipotesi di un progenitore comune per tutti gli animali, parlava però di un piccolo numero di specie originarie da cui tutte le altre sarebbero derivate.

Erasmus Darwin (1731-1802), nonno del più celebre Charles, in *Zoonomia*, la sua opera principale, formulò delle ipotesi sulla trasformazione del vivente analoghe a quelle successivamente formulate da Lamarck. In molti casi si possono leggere affermazioni che anticipano il pensiero del nipote: "... sembra che lo scopo ultimo della lotta fra maschi sia che l'animale più forte e più attivo possa riprodursi...".

9.4 Lamarck e l'ereditarietà dei caratteri acquisiti

Ma la prima teoria articolata e coerente dell'evoluzione biologica si deve a J. B. P. A. Lamarck (1744-1829). Le sue ipotesi furono pubblicate per la prima volta nella *Philosophie zoologique* (1809) e poi rielaborate in molti scritti successivi.

Anche Lamarck, come Cuvier ed altri, aveva osservato come gli strati di roccia più profondi e quindi verosimilmente più antichi racchiudevano fossili di forme viventi più semplici, ma, a differenza di Cuvier, ritenne che ciò potesse essere spiegato ipotizzando una sorta di derivazione degli organismi più complessi e più recenti da quelli più semplici e più antichi.

Questa derivazione biologica o evoluzione, come viene oggi chiamata, dipendeva per Lamarck da due fattori:

- i nuovi caratteri compaiono negli esseri viventi in risposta alla necessità ed ai nuovi bisogni indotti da un ambiente in continua trasformazione. I nuovi caratteri si sviluppano con l'uso, mentre regrediscono e scompaiono se inutilizzati (**principio dell'uso e non uso**). Poiché era opinione corrente che i vegetali non avvertissero sensazioni di bisogno, Lamarck non applicò la sua teoria al regno vegetale, indebolendola notevolmente.
- i nuovi caratteri acquisiti vengono trasmessi per eredità alle generazioni successive (**principio dell'ereditarietà dei caratteri acquisiti**).

Il suo esempio più famoso è quello della giraffa. Secondo Lamarck la giraffa moderna si è evoluta da antenati a collo corto, costretti ad allungarlo per raggiungere le foglie più alte dei rami in periodi di scarsa disponibilità alimentare. Questi antenati trasmisero il collo allungato ai loro discendenti i quali continuarono ad allungarlo e così via.

Nell'opera di Lamarck sopravvive la convinzione di origine aristotelica che l'uomo si trovi all'apice di una scala naturale. In questo senso l'evoluzione di una specie in un'altra più progredita sarebbe in qualche modo collegata ad un principio creativo finalizzato alla comparsa dell'uomo sulla terra.

Una specie di principio vitale universale che, sotto forma di una forza interna agli esseri viventi, tende a trasformarli in forme organiche più evolute e sempre più complesse, trovando la propria realizzazione nella specie umana. La teoria lamarckiana è in questo senso ancora fortemente finalistica.

Per giustificare il fatto che, nonostante il processo evolutivo trasformi gli organismi più semplici in organismi più complessi, i gradini più bassi della scala naturale continuano ad essere occupati da forme di vita estremamente semplici, Lamarck accetta l'ipotesi aristotelica della **generazione spontanea** degli organismi più semplici dalla materia organica inanimata.

Alla luce delle attuali conoscenze di genetica possiamo affermare che un essere vivente può effettivamente perfezionare con l'uso un certo organo come, d'altra parte, può giungere all'atrofia di certe funzioni se non adeguatamente utilizzate, ma ogni modificazione dell'organismo che non si rifletta in una corrispondente modificazione del corredo cromosomico non può essere ereditata e non può di conseguenza dar luogo a nessuna forma di evoluzione. I caratteri acquisiti sono modificazioni del fenotipo e non del genotipo.

La teoria lamarckiana non fu accolta favorevolmente dalla critica tradizionalista, trovando un convinto oppositore proprio in Cuvier che, col suo crescente prestigio nel campo degli studi biologici e paleontologici, ne decreterà il declino. Morti Lamarck e Cuvier, si spensero gli echi dello scalpore suscitato dalla teoria lamarckiana. Bisognerà aspettare un trentennio perché, con Darwin (1809-1882), attraverso una più completa e coerente documentazione, possa essere conferito al concetto di evoluzione biologica la dignità di teoria scientifica e di paradigma fondamentale della biologia moderna, avviando così alla crisi tutta una tradizione di pensiero.

9.5 Darwin e la selezione naturale

Nonostante la teoria lamarckiana non sia oggi più sostenibile, essa rappresentò il primo tentativo coerente di superare il concetto di fissità delle specie in favore di una visione evoluzionistica del mondo dei viventi e rappresentò un punto di riferimento fondamentale per l'opera di Darwin.

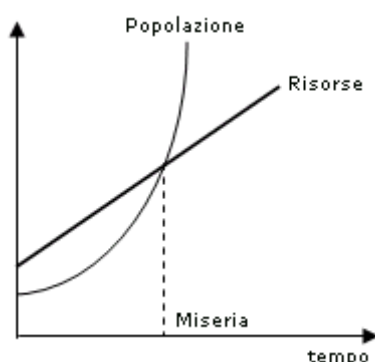
Charles Darwin e Alfred Russel Wallace formularono contemporaneamente e separatamente una teoria evolutiva degli esseri viventi per selezione naturale.

Nel 1859 Darwin pubblicò, dopo un lavoro di elaborazione durato circa venti anni *"On the origin of species by mean of natural selection"*, un'opera fondamentale che rivoluzionò ogni precedente teoria.

Darwin conosceva le teorie di Lamarck. L'originalità del suo lavoro non sta quindi nell'aver proposto una teoria evolutiva, ma nell'aver dato un'interpretazione scientificamente soddisfacente dei meccanismi evolutivi.

Oltre alle ipotesi di Lamarck, fu fondamentale per la formulazione della teoria darwiniana la conoscenza del lavoro dell'economista inglese **Thomas R. Malthus**, *"Saggio sul principio di popolazione"* (1798) e delle ipotesi attualiste sostenute dal geologo inglese **Charles Lyell** che, nei suoi *"Principi di geologia"*, ripropose con maggior concretezza scientifica la teoria huttoniana portando a suo favore nuove prove ed argomentazioni.

Nel suo *"Saggio"* Malthus afferma che mentre la popolazione umana si sviluppa secondo una progressione geometrica quindi con andamento esponenziale ($y = a^x$), le risorse ed i beni di consumo crescono seguendo una progressione aritmetica ($y = bx$). E' quindi inevitabile, secondo Malthus, che si arrivi ad una situazione in cui le risorse non sono sufficienti per tutta la popolazione.



Malthus utilizza tale analisi per giustificare "scientificamente" l'esistenza dei poveri e per dimostrare "l'inevitabilità della miseria" in un paese in cui la rivoluzione industriale ed un capitalismo non ancora temperato da uno stato sociale avevano creato enormi ingiustizie sociali.

Al di là delle implicazioni sociali ed economiche dell'analisi malthusiana, interessa qui, sottolineare come l'approccio di Malthus sia riconducibile ad una concezione biologica della

società, vista come un'entità soggetta alle stesse leggi naturali che regolano la riproduzione e la moltiplicazione di una qualsiasi popolazione di organismi vegetali o animali.

Darwin intuisce che le conclusioni di Malthus, secondo cui il cibo e le risorse sono un fattore limitante per la crescita delle popolazioni, erano vere per tutte le specie e non solo per la specie umana.

Ad esempio Darwin calcolò che una coppia di elefanti, che sono animali con uno dei più bassi tassi riproduttivi, sarebbe in grado di generare in 750 anni circa 19 milioni di individui. Poiché invece il numero degli elefanti rimane mediamente lo stesso da qualche centinaio d'anni a questa parte, Darwin ne dedusse che gli elefanti attualmente presenti devono essere stati in qualche modo "scelti" tra tutti quelli che si sarebbero potuti generare.

Il processo attraverso il quale gli esseri viventi sono "scelti" per perpetuare la loro specie è detto da Darwin **selezione naturale**.

Ma lo studioso che più di ogni altro influenzò Darwin fu probabilmente Charles Lyell. Lyell infatti portò nuovi numerosi argomenti a favore della teoria dell'attualismo. In realtà Lyell rimase antievoluzionista fino al 1862. Tuttavia, ciò di cui la teoria di Darwin aveva bisogno erano tempi geologici sufficientemente estesi e questo era proprio quello che la teoria di Lyell gli offriva.

Se la terra, come affermava Lyell, possiede una lunga storia fatta, non di catastrofi, ma di impercettibili variazioni che si sommano e si accumulano trasformando lentamente l'ambiente geologico, è naturale e giustificato ritenere che anche il mondo biologico abbia alle sue spalle una lunga storia di graduali modificazioni.

Tuttavia l'esperienza probabilmente decisiva Darwin la fece durante un lungo viaggio di circumnavigazione della terra sul Beagle, dal quale trasse un'enorme quantità di osservazioni sulla lussureggiante e multiforme flora e fauna tropicale.

Dopo un lavoro di elaborazione durato più di vent'anni, Darwin sintetizzò le sue osservazioni in una teoria organica dell'evoluzione, basata sulla selezione naturale, i cui punti essenziali possono essere così riassunti:

- 1) tutti gli organismi producono una progenie di gran lunga superiore alle capacità che l'ambiente ha di sostenerla. Per questo motivo tra tutti gli individui che nascono solo alcuni sono in grado di raggiungere la maturità ed hanno la possibilità di riprodursi;
- 2) in ogni generazione sono presenti individui casualmente molto diversi gli uni dagli altri, con una grande variabilità di caratteri;
- 3) non tutti i caratteri presenti in ciascuna generazione hanno la stessa importanza rispetto alla possibilità di sopravvivenza dell'individuo relativamente all'ambiente in cui vive. Alcuni caratteri possono rendere l'individuo che li porta più adatto a sopravvivere in quel determinato ambiente. Altri caratteri possono risultare indifferenti o addirittura dannosi o letali;
- 4) tra gli individui di una generazione solo quelli che presentano casualmente i caratteri che li rendono più adatti sopravvivono ed hanno così la possibilità di proliferare. Ciò consente loro di trasmettere i loro caratteri alla discendenza, mentre i caratteri degli individui inadatti si estinguono con essi.

L'ambiente si comporta cioè, secondo Darwin, come un filtro in grado di selezionare, di generazione in generazione, solo gli organismi viventi più adatti alla sopravvivenza.

Darwin capovolge in questo modo la teoria di Lamarck. Non è l'ambiente che induce dei cambiamenti evolutivi negli organismi, ma tali cambiamenti sono già presenti casualmente in ogni generazione sotto forma di variabilità individuale. L'ambiente attua solo una selezione su tale variabilità.

Per Darwin l'ambiente gioca un ruolo puramente passivo di filtro, mentre per Lamarck esercita un ruolo attivo, inducendo la variazione dei caratteri.

Poiché non tutti gli individui possono giungere a maturità essendo le risorse naturali insufficienti, si instaurerà una **competizione** tra gli individui per la conquista delle risorse, la **lotta per la sopravvivenza** mutuata dalla lettura di Malthus.

A questo punto saranno "naturalmente selezionati" e sopravviveranno, perpetuando così i loro caratteri, solo gli individui più adatti a quel determinato ambiente.

Per Darwin, che aveva una certa conoscenza dei sistemi di incrocio adottati dagli allevatori, la selezione naturale era del tutto analoga al processo di selezione praticato per il bestiame. Nel caso della selezione artificiale gli *uomini scelgono* gli esemplari di piante o di animali da far riprodurre in base alle caratteristiche che sembrano loro più utili; nel caso della selezione naturale l'ambiente si sostituisce all'uomo.

Inoltre, secondo Darwin, le variazioni tra individui, che sono presenti in ogni popolazione naturale, sono dovute unicamente al caso. Per giustificarle non è possibile chiamare in causa né l'ambiente, né una forza vitale, né un qualche inconscio impulso dell'organismo.

In sé le variazioni non hanno né scopo né direzione. È l'azione della selezione naturale su parecchie generazioni che dà, in modo del tutto casuale, la direzione all'evoluzione.

Molto spesso si sente affermare che la grande rivoluzione del darwinismo è connessa all'ipotesi di un'evoluzione dell'uomo da esseri inferiori.

In realtà l'*evoluzionismo* era una teoria di cui si parlava ormai da quasi un secolo e molto probabilmente il forte impatto della teoria darwiniana non è da ricercarsi nella negazione del creazionismo biblico, ma nella dimostrazione dell'inutilità di un disegno divino e più generale di un progetto in natura.

Lo sviluppo della civiltà occidentale è pervaso dall'idea che il mondo naturale e l'uomo in particolare siano l'espressione di un progetto intelligente (si pensi al Demiurgo del Timeo platonico). All'idea di un progetto in natura si può iscrivere anche la convinzione aristotelica dell'esistenza per ogni specie di un tipo perfetto, cui i vari membri della specie si avvicinavano come copie imperfette.

Gli stessi evoluzionisti predarwiniani, come Buffon, E. Darwin e Lamarck, non abbandonarono mai l'idea di un progetto sotteso al processo evolutivo. L'evoluzione per essi non era governata dal caso, ma dalla tendenza a raggiungere la perfezione.

L'evoluzione biologica è in sé compatibile con l'idea di progetto. Si può ad esempio sempre ammettere che Dio abbia creato l'uomo gradualmente, servendosi di un meccanismo evolutivo da lui messo in moto e controllato. La selezione naturale proposta da Darwin è invece un meccanismo assolutamente casuale e adirezionale, che esclude la necessità di un progetto in natura.

L'avversione della Chiesa per la teoria darwiniana fu immediata e per alcuni versi ancora più forte di quella espressa in precedenza nei confronti del copernicanesimo. Nel 1543 l'astronomo polacco aveva dato il colpo di grazia al dogma geocentrico spostando la Terra in zona periferica, ora Darwin lo assestava a quello antropocentrico, relegando l'uomo nel regno animale. Così se in una delle sue rare visite al British Museum lo scienziato venne indicato da un pastore anglicano presente in quel luogo come "l'uomo più pericoloso d'Inghilterra", anche molti scienziati suoi amici fra cui il geologo Lyell (le cui idee avevano ispirato il giovane Darwin) non accettarono la nuova teoria. Lyell dichiarò candidamente che preferiva considerare l'uomo come un arcangelo decaduto piuttosto che un essere derivato dalla scimmia, anche se in verità Darwin non disse (né avrebbe potuto dirlo) che l'uomo discende dalla scimmia. Nell'*Origine delle specie* l'autore non fa mai riferimento diretto al posto dell'uomo nell'evoluzione ma ai benpensanti non sfuggì che anche l'uomo, come tutti gli animali più evoluti, sarebbe dovuto derivare da una forma inferiore di vita che nel suo caso non poteva che essere la scimmia. Solo dodici anni più tardi Darwin scrisse l'*Origine dell'uomo* in cui avrebbe affrontato l'argomento specifico.

Darwin fu attaccato nel punto più debole della sua teoria, quello dell'eredità genetica. Egli non era infatti in grado di spiegare la natura della variabilità individuale ed il modo in cui essa veniva trasmessa di generazione in generazione.

Darwin riteneva, come la maggior parte dei biologi ottocenteschi, che i caratteri dei genitori venissero trasmessi ai figli, mescolandosi (**eredità per mescolamento**). Tale modello ha tuttavia delle implicazioni fatali per una teoria evolutiva che dipenda dalla variabilità. Infatti il mescolamento dei caratteri tende irrimediabilmente a generare individui intermedi, creando uniformità all'interno delle popolazioni nell'arco di poche generazioni e togliendo quindi la necessaria variabilità su cui agisce la selezione naturale. Darwin fu dunque costretto ad ipotizzare che la variabilità si rigenerasse grazie alla possibilità degli individui di trasmettere ai figli le nuove caratteristiche che acquisivano durante la loro esistenza.

Nel 1868, in *"The variation of animals and plants"*, avanzò pertanto una **"ipotesi provvisoria di pangenesi"**, teoria peraltro già presente nel Corpus hippocraticum, secondo la quale da tutte le parti dell'organismo si staccerebbe minuscole "gemmule", le quali andrebbero a confluire negli organi riproduttivi. La teoria, era strutturata in modo tale che le influenze ambientali che agivano sull'intero organismo modificandolo potessero modificare anche le gemmule riproduttive andando a far parte del patrimonio ereditabile.

In tal modo anche Darwin, paradossalmente, fu costretto ad ammettere, come Lamarck, l'ereditabilità dei caratteri acquisiti.

D'altra parte il lavoro pionieristico di Mendel sull'ereditarietà dei caratteri non ebbe sufficiente diffusione e Darwin non ne venne mai a conoscenza.

Verso la fine dell'Ottocento l'ereditarietà dei caratteri acquisiti si rivelò falsa, quando nel decennio 1880-1890 August Weismann tagliò la coda a topi che poi faceva accoppiare. Dopo venti generazioni i topi nascevano ancora con la coda, lunga quanto quella dei topi della prima generazione (in effetti il naturalista tedesco avrebbe potuto risparmiarsi una tale dimostrazione: sarebbe stato sufficiente osservare che le donne, nascono sempre con l'imen intacto a dispetto del fatto che, da Eva in poi, venga perso ad ogni generazione).

9.6 L'evoluzionismo post-darwiniano

Su tale argomento si iniziò a vedere chiaro solo all'inizio del '900, con la ripresa degli studi di genetica, quando Hugo de Vries formulò la sua **teoria delle mutazioni**, dove sostenne che nuovi caratteri possono improvvisamente comparire per modificazione permanente ed ereditabile del patrimonio genetico. Le mutazioni diventavano pertanto la nuova fonte di variabilità di cui la teoria dell'evoluzione per selezione naturale necessitava.

Ma la rinascita degli studi genetici che caratterizzò i primi anni del '900 (Hugo de Vries, Karl E. Correns, Erich von Tschermak) vide tuttavia l'aprirsi di un conflitto tra la teoria darwiniana dell'evoluzione e la teoria mendeliana dell'ereditarietà.

La caratteristica essenziale dell'ereditarietà mendeliana era infatti la possibilità di trasmettere inalterate le caratteristiche genetiche di generazione in generazione. Tutti i brillanti risultati ottenuti e la possibilità di prevedere anche quantitativamente la composizione delle generazioni filiali si fondavano infatti su questo fondamentale assunto.

Il darwinismo invece postulava la possibilità di trasformazione della specie per lento accumulo di lievi differenze nei caratteri originari. La stessa teoria ereditaria proposta da Darwin (pangenesi) prevedeva una specie di mescolamento e quindi di diluizione dei caratteri materni e paterni per fusione delle gemmule riproduttive (in questo Darwin rimaneva ancorato alla tradizione secolare degli allevatori che ammetteva che i caratteri dei figli si producessero per mescolamento del sangue dei genitori. Termini come "mezzosangue", "purosangue" "sanguemisto" sono ancor oggi d'uso comune).

Il divario tra i due approcci si acuì ulteriormente quando si iniziarono a studiare i caratteri quantitativi a variabilità continua. Oggi noi sappiamo che anch'essi sono riconducibili ad un'eredità di tipo mendeliano con un controllo polifattoriale del carattere, ma allora l'interpretazione corrente era che si trattasse di una variabilità puramente fenotipica, non ereditabile. Sembrava dimostrarlo anche la legge della regressione filiale, tipica dei caratteri a

variabilità continua, per cui i figli tendono a presentare caratteristiche di tipo medio, anche quando derivano da genitori che presentano caratteri estremi.

I biologi che si occupavano verso i primi anni del '900 dello studio dei caratteri quantitativi misurabili fondarono la **biometria**.

La scuola biometrica (K.Pearson, W.Weldon) partiva dall'evidenza osservativa che la variabilità era di tipo continuo nella maggior parte degli organismi. Così, mentre i biometrici continuarono ad aderire alla concezione darwiniana di evoluzione come processo lento e graduale, i mendeliani ritenevano che le piccole variazioni caratteristiche dei caratteri quantitativi, fossero in gran parte fenotipiche, non riconducibili all'eredità mendeliana, quindi non ereditabili e non invocabili, come aveva fatto Darwin, per giustificare il processo evolutivo.

Essi ritenevano che l'unica variabilità in grado di essere ereditata fosse quella prodotta in modo vistoso dalle mutazioni, trasmissibile secondo i meccanismi mendeliani, producendo un processo evolutivo non graduale e progressivo, ma a salti.

Secondo i mendeliani qualsiasi tentativo di selezione effettuato su piccole variazioni quantitative sarebbe inutile, reso inefficace dalla regressione.

Un altro elemento di incertezza all'inizio del secolo era legato al ruolo della riproduzione sessuale nei processi evolutivi. Perché la riproduzione sessuale non porta ad un aumento di uniformità, inaridendo in tal modo la fonte di variabilità necessaria al processo evolutivo?

A questo e ad altri interrogativi si iniziò a rispondere ben presto e la frattura aperta all'inizio del secolo tra la teoria "atomistica" mendeliana della genetica e la descrizione "biometrica" darwiniana di una variazione continua nelle popolazioni reali si ricompose rapidamente.

Nel 1908 l'americano Hardy ed il tedesco Weinberg dimostrarono, indipendentemente l'uno dall'altro che la riproduzione sessuale non modifica la frequenza degli alleli all'interno di una popolazione. In altre parole l'eredità mendeliana conserva la variabilità durante il ciclo riproduttivo.

Successivamente fu possibile evidenziare sperimentalmente che i caratteri a variabilità continua potevano essere interpretati in base ad un'analisi plurifattoriale di tipo mendeliano, dimostrando in tal modo che anche le piccole variazioni presenti nelle popolazioni potevano avere un fondamento genetico e costituire materiale per il processo evolutivo.

9.7 La teoria sintetica dell'evoluzione

Nel 1918 Ronald A. Fisher nel suo studio intitolato "The Correlation Between Relatives on the Supposition of Mendelian Inheritance." dimostrò che tutti i risultati del processo continuo descritto da Darwin possono esser fatti derivare dai principi mendeliani. Fisher dimostrò come la variabilità continua possa essere il risultato dell'effetto additivo di molti geni. Questo lavoro è spesso considerato l'inizio della sintesi tra i due modelli, poiché Fischer aveva reso disponibile un rigoroso modello statistico-matematico in grado di soddisfare le esigenze (ed i metodi) sia della scuola biometrica che di quella mendeliana.

Fu lo stesso Fisher (*The Genetical Theory of Natural Selection*, 1930) e, indipendentemente, John B. S. Haldane (*The Causes of Evolution*, 1932) e Sewall Wright (*Evolution in mendelian populations*, 1931), a completare il lavoro teorico che portò alla sintesi della teoria darwiniana della selezione naturale con quella mendeliana dell'ereditarietà. **Nasce il neodarwinismo, o teoria sintetica dell'evoluzione.**

Si stabilisce, dunque, che la selezione naturale agisce sulla normale variabilità delle popolazioni selvatiche, che seguono le leggi di ereditarietà mendeliane. Nasce la **genetica delle popolazioni**. Le prime applicazioni si devono a Theodosius Dobzhansky, il quale verificò sperimentalmente, a partire dal 1935, la validità della teoria sintetica dell'evoluzione in popolazioni di *Drosophila* (ancor oggi uno dei modelli preferiti dai genetisti). Del 1937 è il suo fondamentale "*Genetics and the Origin of Species*". La **moderna sintesi** (come spesso è definita la teoria sintetica) finisce per influenzare e rivoluzionare molti campi della biologia. Ne dà un esempio Julian Huxley, che applica i concetti del neodarwinismo alla tassonomia. Del 1940 è il suo "*The New Systematics*", in cui verifica la piena compatibilità della nuova teoria con le vecchie categorie sistematiche. Sulla stessa strada è il fondamentale "*Systematics and the Origin of Species*" (1942) di Ernst Mayr.

Contemporaneamente anche altre branche della biologia come la paleontologia, che inizialmente erano rimaste relativamente ai margini del dibattito iniziarono a reinterpretare le proprie conoscenze alla luce della nuova teoria sintetica che divenne ben presto il paradigma e la nuova struttura unificante delle diverse discipline biologiche.

Negli anni '40 la nuova teoria era ormai completa ed organicamente fondata. La sua nuova immagine interdisciplinare prese forma nel libro di Huxley "Evolution. The Modern Synthesis" (1942).

9.8 La genetica di popolazione

La genetica di popolazione studia la struttura genetica delle popolazioni (variabilità e distribuzione dei caratteri all'interno di un gruppo di individui) ed i processi evolutivi ai quali essa è sottoposta. (dinamica delle variazioni di frequenza dei caratteri e cause che le provocano).

Tale approccio è essenziale per una corretta comprensione dei processi evolutivi. L'evoluzione, a livello di base, è infatti determinata dai cambiamenti progressivi che subiscono le frequenze alleliche nelle popolazioni fino a trasformarsi in nuove specie (**speciazione**). La popolazione viene considerata l'unità di base del cambiamento evolutivo.

La **specie** è l'unità tassonomica elementare, costituita da tutti individui morfologicamente simili, tra loro fecondi ed in grado di generare prole fertile. Tale definizione è purtroppo limitata solamente a quelle specie che si riproducono per via sessuata. Nel caso di organismi che si riproducono, come ad esempio i batteri, per via asessuata, la specie deve essere individuata attraverso altri criteri (morfologici, biochimici etc).

Una specie è in genere formata da più popolazioni.

Una **popolazione** è costituita da un gruppo di individui della stessa specie che, vivendo in un'area geografica particolare, si è ad essa adattata e presenta pertanto una struttura genetica diversa da quella di un'altra popolazione. Gli individui di una popolazione, presentando una maggior probabilità di incrocio reciproco rispetto agli individui di un'altra popolazione, tendono a mantenere nel tempo le differenze genetiche rispetto alle altre popolazioni.

Una popolazione è univocamente descritta dal suo **pool genico**, inteso come l'insieme di tutti gli alleli presenti nella popolazione, descritti per tipo e frequenza. La struttura genetica di una popolazione viene espressa in termini di frequenze alleliche e, di conseguenza, genotipiche. Il pool genico è ovviamente un concetto astratto, essendo in pratica distribuito all'interno degli individui che compongono la popolazione. Il singolo individuo è solo un temporaneo contenitore di un piccolo campione del pool genico.

La genetica di popolazione studia la struttura ed i cambiamenti di composizione del pool genico (sia come tipo che come frequenza degli alleli) e le forze che li provocano (fattori evolutivi).

Nelle popolazioni naturali alcuni alleli aumentano di frequenza da una generazione ad un'altra ed altri diminuiscono, alcuni spariscono ed altri nuovi si producono.

Se un individuo presenta una combinazione favorevole di alleli nel suo genotipo, questi alleli hanno una probabilità maggiore di essere presenti in proporzione maggiore nel pool genico della generazione successiva. Se la combinazione non è favorevole la frequenza di quegli alleli nella generazione successiva diminuisce o, al limite, si annulla.

L'evoluzione è il risultato di tali cambiamenti accumulati nel pool genico col passar del tempo.

Lo strumento statistico-matematico utilizzato per fotografare il pool genico è fornito dalla cosiddetta **legge di Hardy-Weinberg** che correla le frequenze genotipiche di un carattere in una popolazione alle frequenze alleliche del medesimo carattere nel pool genico.

Come vedremo tale relazione permette di calcolare le frequenze alleliche, note le frequenze genotipiche. Infatti, poiché il pool genico è un'entità astratta, le frequenze alleliche non sono direttamente misurabili, mentre le frequenze dei diversi genotipi in una popolazione in alcuni casi lo sono.

La legge di Hardy-Weinberg è applicabile solo se la popolazione è in **equilibrio genetico**, detto anche **equilibrio di Hardy-Weinberg**.

Si dice che una popolazione è in equilibrio genetico quando tutte le frequenze alleliche rimangono costanti nel tempo. In altre parole quando non è in atto nessun processo evolutivo.

Affinché in una popolazione valga la legge di Hardy-Weinberg è necessario che siano soddisfatte le seguenti condizioni:

- 1) la popolazione deve essere sufficientemente numerosa in modo che siano applicabili le leggi della probabilità (in questo modo le frequenze che misuriamo sono una buona stima della probabilità)
- 2) l'accoppiamento tra gli individui della popolazione deve essere assolutamente casuale (panmissia).
- 3) Tutti gli individui si accoppiano e si riproducono (non vi è selezione naturale)
- 4) Non devono essere presenti altri fattori in grado di far variare le frequenze alleliche, come mutazioni, movimenti di individui tra popolazioni (flusso genico) e deriva genetica.

Supponiamo ora che un carattere sia presente nella popolazione con 2 alleli (A, a) indichiamo la frequenza dell'allele dominante nel pool genico con 'p' e quella dell'allele recessivo 'q'. Nel caso di incroci perfettamente casuali sarà allora possibile calcolare le frequenze con cui compaiono i 3 genotipi (AA, Aa, aa) nella popolazione con un quadrato di Punnett.

	A (p)	a (q)
A (p)	AA p^2	Aa pq
a (q)	Aa pq	aa q^2

Per ottenere le frequenze genotipiche è quindi sufficiente sviluppare il quadrato della somma delle frequenze alleliche. Otteniamo così la formula di Hardy-Weinberg

$$(p + q)^2 = p^2 + 2pq + q^2$$

Dove

p = frequenza allele dominante (A) nel pool genico

q = frequenza allele recessivo (a) nel pool genico

p^2 = frequenza degli omozigoti dominanti (AA) nella popolazione

$2pq$ = frequenza degli eterozigoti (Aa) nella popolazione

q^2 = frequenza degli omozigoti recessivi (aa) nella popolazione

Si noti che la somma delle frequenze alleliche (p + q) deve sempre essere uguale ad 1.

Nel caso di un carattere presente nel pool genico con più di due alleli si dovrà comunque sviluppare il quadrato della somma di tutti gli alleli.

Ad esempio nel caso dei gruppi sanguigni sistema AB0 con i 3 alleli A, B e 0 avremo

p = frequenza allele A nel pool genico

q = frequenza allele B nel pool genico

r = frequenza allele 0 nel pool genico

$$(p + q + r)^2 = p^2 + q^2 + r^2 + 2pq + 2pr + 2qr$$

dove

p^2 = frequenza individui AA nella popolazione

q^2 = frequenza individui BB nella popolazione

r^2 = frequenza individui 00 nella popolazione

$2pq$ = frequenza individui AB nella popolazione

$2pr$ = frequenza individui A0 nella popolazione

$2qr$ = frequenza individui B0 nella popolazione

Se la popolazione è in equilibrio genetico si può utilizzare la legge di Hardy-Weinberg per calcolare le frequenze alleliche misurando le frequenze degli omozigoti recessivi nella popolazione. Si noti infatti che gli omozigoti recessivi sono in genere gli unici di cui si possa misurare la frequenza nella popolazione poiché il loro fenotipo è distinguibile da quello degli omozigoti dominanti e degli eterozigoti, che invece presentano il medesimo fenotipo.

Un esempio aiuterà a chiarire.

La fenilchetonuria o PKU (o iperfenilalaninemia) è una grave malattia genetica, in cui gli omozigoti recessivi mancano di un enzima in grado di utilizzare correttamente l'aminoacido fenilalanina, normalmente presente nei cibi, con conseguente ritardo mentale dovuto all'azione tossica della fenilalanina e dei suoi derivati sulle cellule cerebrali.

I dati statistici dicono che un neonato su 15.000 è affetto da questa malattia.

Se dunque la frequenza degli omozigoti recessivi $q^2 = 1/15.000$, per calcolare la frequenza dell'allele recessivo nel pool genico della popolazione sarà sufficiente estrarre la radice quadrata di $1/15.000$

$$q = \sqrt{q^2} = \sqrt{1/15000} = 0,008$$

$$q = 0.008$$

$$p = 1 - q = 0.992$$

GLi omozigoti dominanti saranno

$$p^2 = 0.984 = 98,4\%$$

mentre gli eterozigoti, portatori sani, saranno $2pq = 0.016 = 1,6\%$

cioè circa 16 persone su 1000.

Nel caso di alleli multipli la frequenza di ciascun allele è pari alla frequenza del suo omozigote più la semisomma delle frequenze di tutti gli eterozigoti in cui l'allele compare. Verifichiamolo, ad esempio nel caso di un carattere che si presenta con tre alleli (A, B e C) aventi rispettivamente frequenze p, q ed r. Calcoliamo la frequenza r dell'allele C nel pool genico. Ricordando che $(p + q + r) = 1$, potremo scrivere

$$r = r(p + q + r) = pr + qr + r^2 = (2pr + 2qr)/2 + r^2$$

dove

$(2pr + 2qr)/2$ = semisomma delle frequenze degli eterozigoti in cui compare l'allele C

r^2 = frequenza degli omozigoti CC

Come si ricorderà, storicamente la legge di Hardy-Weinberg ha una sua rilevanza in quanto dimostrò che la riproduzione sessuata non distruggeva la variabilità genetica all'interno di una popolazione, come poteva a prima vista sembrare.

Vediamo un esempio. Si consideri una popolazione costituita da:

36% di omozigoti dominanti AA

48% di eterozigoti Aa

16% di omozigoti recessivi aa

Le frequenze alleliche nel pool genico di questa popolazione si possono calcolare a partire dalla percentuale di omozigoti recessivi.

La frequenza q dell'allele recessivo a è pari a

$$q = \sqrt{q^2} = \sqrt{0,16} = 0,4$$

La frequenza p dell'allele dominante A è pari a

$$P = 1 - q = 1 - 0,4 = 0,6$$

Ora, se gli individui di questa popolazione si incrociano casualmente avremo che

Gli individui omozigoti dominanti produrranno solo gameti con l'allele A, gli individui eterozigoti produrranno metà gameti con l'allele A e metà gameti con l'allele a, gli individui omozigoti recessivi produrranno solo gameti con l'allele recessivo, nelle seguenti proporzioni

individui	gameti	Totale gameti
Omozigoti dominanti	36% gameti A	60% gameti A
Eterozigoti Aa	24% gameti A 24% gameti a	
Omozigoti recessivi aa	16% gameti a	40% gameti a

Se durante la riproduzione i gameti si uniscono casualmente, otterremo

	A 0.6	a 0.4
A 0.6	AA 0.36	Aa 0.24
a 0.4	Aa 0.24	aa 0.16

Come si può osservare le frequenze genotipiche sono rimaste inalterate e di conseguenza anche le frequenze alleliche

In realtà le condizioni poste dalla legge di Hardy-Weinberg sono estremamente restrittive e molto difficilmente possono essere soddisfatte nelle popolazioni naturali. La legge di Hardy-Weinberg fornisce pertanto un quadro teorico di riferimento rispetto al quale confrontare le popolazioni reali.

9.9 Microevoluzione e fattori evolutivi

Le popolazioni evolvono, trasformando il loro pool genico nel tempo. In tal caso dobbiamo ricercare i fattori che modificano le frequenze alleliche. I fattori che modificano le frequenze alleliche, avendo sul pool genico effetti direttamente osservabili e misurabili, sono detti **fattori evolutivi** e sono alla base della cosiddetta **microevoluzione**.

I fattori evolutivi sono 5: le mutazioni, le modalità di incrocio, la deriva genetica, il flusso genico e la selezione naturale.

9.9.1 Mutazioni

Le **mutazioni** sono alterazioni casuali ed ereditarie del corredo cromosomico, che comportano la modificazione o la comparsa di nuovi alleli.

Come abbiamo già visto le mutazioni possono essere indotte da agenti mutageni, ma esistono anche mutazioni cosiddette "spontanee" che avvengono senza che sia possibile evidenziare gli agenti fisici o chimici che le hanno indotte.

La frequenza delle mutazioni spontanee è in genere bassa. Per mutazioni osservabili sul fenotipo dell'uomo essa varia da 1 su 1000 fino a 1 su 10.000 gameti per generazione, a seconda dell'allele interessato.

Si è calcolato che ogni nuovo essere umano è mediamente portatore di due nuove mutazioni. Perciò, anche se l'incidenza delle mutazioni per individuo è molto bassa, il numero di nuove mutazioni per generazione nel pool genico è piuttosto elevata.

9.9.2 Flusso genico

Il **flusso genico** è connesso con il processo di migrazione di individui riproduttivi tra popolazioni della stessa specie o, come nel caso delle piante e degli invertebrati acquatici, con il movimento del polline o dei gameti liberati nell'acqua. Il flusso genico può portare nuovi alleli all'interno di una popolazione o può mutare la frequenza allelica.

9.9.3 Deriva genetica

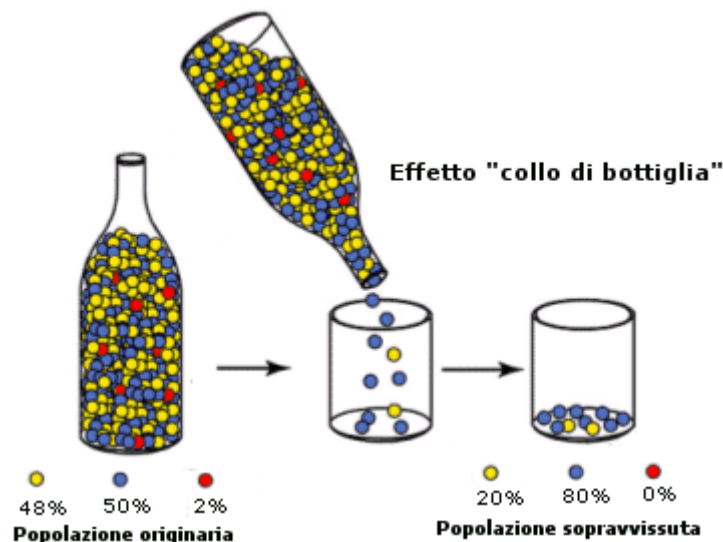
La **deriva genetica** o **genetic drift** è una variazione della frequenza allelica dovuta al caso. Si hanno fenomeni di deriva genetica quando da una popolazione viene estratto e separato un piccolo gruppo di individui che va a formare una nuova popolazione. Il fenomeno è legato al fatto che più piccolo è un campione e maggiori sono le probabilità che esso risenta di fluttuazioni statistiche casuali e non sia pertanto rappresentativo della popolazione di origine. Da un punto di vista statistico si tratta dunque di un **errore di campionamento**. Le conseguenze della deriva genetica sono un cambiamento casuale delle frequenze alleliche ed una riduzione della variabilità genetica.

Vi sono due casi tipici di deriva genetica descritti dai genetisti come effetto del fondatore ed effetto collo di bottiglia.

L'**effetto del fondatore** si produce quando un piccolo numero di individui si separa da una popolazione per andare a formare una nuova colonia. In questo caso è poco probabile che il pool genico di questo piccolo gruppo presenti gli stessi alleli e con la stessa frequenza del pool genico della popolazione madre. In altre parole esso non è un campione statisticamente rappresentativo. Un po' come è assai improbabile che su dieci lanci di una moneta otteniamo sempre cinque volte testa e cinque volte croce.

Un classico esempio dell'effetto del fondatore è quello della comunità Amish in Pennsylvania. Si tratta dei discendenti di un piccolo gruppo di individui immigrati dalla Svizzera durante il 1700. Uno dei fondatori possedeva casualmente un allele recessivo che determina una rara forma di nanismo e polidattilia. Attualmente il 13% degli individui della colonia reca questo allele, con una frequenza enormemente superiore a quella riscontrabile nella popolazione mondiale.

L'**effetto collo di bottiglia** si produce quando una popolazione viene decimata da un evento catastrofico, come un'epidemia, una eccessiva predazione, un'eruzione vulcanica etc. Quando una popolazione esce da un collo di bottiglia è molto probabile che il suo pool genico sia diverso da quello originario e sicuramente con una variabilità inferiore.



Una perdita di variabilità genica è stata documentata nell'elefante marino boreale e nel ghepardo. Nell'Ottocento l'elefante marino fu cacciato fin quasi all'estinzione, tanto che alla fine di quel secolo ne sopravvivevano solo circa 20 esemplari. Grazie a una politica di protezione, la popolazione è oggi cresciuta a circa 30000 individui, ma le analisi biochimiche mostrano che tutti gli elefanti marini sono *quasi identici dal punto di vista genico*. A causa della scarsa variabilità genica, questa specie ha quindi una potenzialità di evolversi in risposta alle variazioni ambientali notevolmente ridotta e, in definitiva, benché il numero di individui si sia accresciuto, la specie nel suo complesso è ancora da ritenersi in pericolo di estinzione. I ghepardi presentano lo stesso problema, benché si ignori a che cosa sia dovuto il collo di bottiglia. Quindi, anche i ghepardi potrebbero essere in grande pericolo nel caso intervengano piccoli cambiamenti ambientali.

9.9.4 Modalità di incrocio

Abbiamo visto come la legge di Hardy-Weinberg dimostri che quando in una popolazione l'accoppiamento tra individui è assolutamente casuale (**panmissia**), le frequenze alleliche e genotipiche tendono a rimanere costanti nel tempo, poiché vi è la massima probabilità che ogni allele si distribuisca uniformemente nel pool genico.

Il termine "accoppiamento casuale" significa che gli individui non scelgono il loro compagno sulla base di un qualche carattere ereditabile. Ad esempio, gli esseri umani si accoppiano casualmente rispetto ai gruppi sanguigni poiché in genere essi non scelgono il loro compagno sulla base di questa caratteristica.

Tuttavia è necessario tener presente che in genere all'interno di una specie sono presenti dei sottogruppi genetici (razze, etnie etc) il cui pool genico differisce e spesso gli individui tendono ad incrociarsi all'interno del proprio sottogruppo (**endogamia**). In questo senso, se gli italiani ed i russi mostrano frequenze diverse per il gruppo sanguigno AB0, e gli italiani tendono ad accoppiarsi con gli italiani, mentre i russi si accoppiano con i russi, esisterà un involontario accoppiamento non casuale rispetto al gruppo sanguigno AB0.

Tutti i sistemi di incrocio che comportano una deviazione dalla casualità (ad esempio la scelta del partner in base al fenotipo o selezione sessuale, tendenza all'incrocio tra consanguinei etc) portano ad una modificazione delle frequenze genotipiche e possono modificare il pool genico.

Esempi di incroci non casuali sono l'inincrocio e l'incrocio assortativo.

La modalità di incrocio che si ha quando determinati genotipi sono responsabili di caratteristiche fenotipiche che influenzano la scelta del partner, è detta **accoppiamento assortativo positivo**. Si ha invece **accoppiamento assortativo negativo** quando l'accoppiamento risulta *preferenziale tra* individui aventi differenti genotipi. La **selezione sessuale** è una forma di selezione naturale come conseguenza di un accoppiamento assortativo in cui gli individui scelgono il partner non in modo casuale, ma in relazione a particolari caratteristiche, indipendentemente dagli effetti che tali caratteristiche potrebbero avere sulla capacità di sopravvivenza dell'individuo.

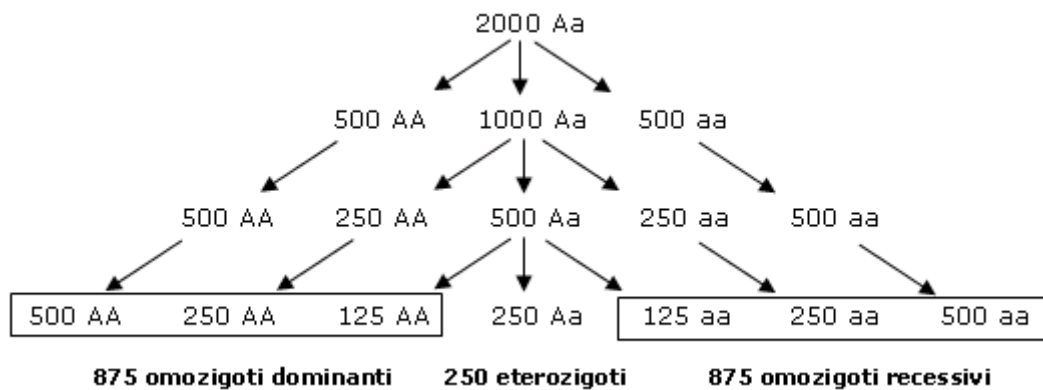
Come lo stesso Darwin aveva compreso, molti dei più appariscenti adattamenti degli animali non hanno direttamente a che fare con la sopravvivenza, ma con la selezione sessuale. La selezione sessuale è la causa principale del **dimorfismo sessuale**.

Nelle specie in cui sono le femmine che scelgono il partner per l'accoppiamento (e sono le più numerose), i maschi tendono ad essere molto più vistosi e colorati, proprio perché tali caratteri sono stati preferiti e quindi selezionati dalle femmine della propria specie.

L'**inincrocio** o **inbreeding** è l'accoppiamento sistematico tra individui strettamente imparentati (consanguinei). Si ha quando l'accoppiamento fra individui imparentati è più frequente rispetto a quanto atteso in base al caso. In alcune piante ed animali ermafroditi l'inincrocio può giungere al caso estremo dell'autofecondazione.

Se tale pratica si mantiene per più generazioni produce una modificazione delle frequenze genotipiche con una tendenza all'eliminazione degli individui eterozigoti e all'affermazione dell'omozigosi (line pure).

Se ad esempio consideriamo una popolazione costituita da 2000 individui eterozigoti Aa, dopo quattro generazioni di inincrocio si assiste ad una modificazione delle frequenze genotipiche con la presenza di un 87,5% di omozigoti ed un 12,5% di eterozigoti.



Ad ogni generazione si dimezza il numero degli eterozigoti. Infatti quando gli eterozigoti si incrociano tra loro producono un 50% di eterozigoti, un 25% di omozigoti dominanti ed un 25% di omozigoti recessivi (legge della segregazione), mentre quando gli omozigoti si incrociano tra loro producono ovviamente il medesimo genotipo.

In effetti la frequenza allelica non è mutata, infatti l'allele 'A' e l'allele 'a' presentano ciascuno una frequenza del 50%, invariata rispetto alla popolazione iniziale.

Tuttavia, poiché molti caratteri letali o che esprimono difetti o malattie sono recessivi, l'incrocio tende a portarli alla luce allo stato omozigote, esponendoli alla selezione naturale e favorendone l'eliminazione. Alleli recessivi indesiderati e rari, che in condizioni normali sono presenti prevalentemente allo stato eterozigote e che quindi risultano latenti, hanno ora una maggiore probabilità di esprimersi allo stato omozigote.

Negli esseri umani ad esempio è noto che rare anomalie recessive si manifestano più frequentemente nella prole di genitori consanguinei.

E' stato inoltre osservato che una maggior percentuale di omozigosi è spesso associata (soprattutto negli animali) a manifestazioni di scarsa vitalità e di debolezza costituzionale, a prescindere dalla presenza di caratteri nocivi di tipo recessivo (**depressione da inincrocio**).

Il fenomeno è probabilmente da mettere in relazione con il fatto che la condizione eterozigote, essendo portatrice di una maggior variabilità (maggiore è il tasso di eterozigosi in un individuo e più elevato è il numero di alleli diversi che possiede) potrebbe essere favorita dalla selezione naturale. Tale aspetto è anche noto come **superiorità dell'eterozigote** e risulta particolarmente evidente nel fenomeno dell'**eterosi** (o lussureggiamento degli ibridi o vigore ibrido).

L'**eterosi** è un fenomeno opposto e complementare a quello della depressione da inbreeding. Se l'inbreeding è il risultato dell'accoppiamento di individui simili (parenti) e in dipendenza di ciò produce un aumento di omozigosi a scapito dell'eterozigosi, l'eterosi è il risultato dell'aumento di eterozigosi come conseguenza dell'accoppiamento tra individui diversi, provenienti, ad esempio, da razze o da linee pure differenti.

Se si incrociano infatti due linee pure diverse in molti casi si ottengono individui con una altissima percentuale di eterozigosi (ibridi), che presentano una straordinaria vigoria rispetto alle linee parentali. Il fenomeno è stato sfruttato su larga scala per la produzione di ibridi di mais.

Altri fattori legati ai processi di riproduzione che favoriscono la variabilità all'interno delle popolazioni sono la diploidia e la sessualità.

Nella **sessualità** comprendiamo qualsiasi processo attraverso il quale gli individui scambiano materiale genetico al fine di aumentare la loro variabilità o quella della loro discendenza. Il modo di gran lunga più diffuso attraverso cui ciò avviene è mediante la gametogenesi e la successiva fecondazione.

Questi processi producono nuove combinazioni geniche, aumentando enormemente la variabilità all'interno della popolazione, in tre modi

4. crossing-over e relativa ricombinazione genica

5. assortimento indipendente dei cromosomi
6. unione di genomi parentali differenti durante la fecondazione

Anche la **condizione diploide** infine può essere considerata un elemento che favorisce la variabilità all'interno della popolazione.

In un organismo aploide infatti tutte le variazioni genetiche sono espresse immediatamente nel fenotipo e sono quindi esposte al processo di selezione. In un organismo diploide invece tali variazioni possono conservarsi allo stato recessivo e andare così ad aumentare la variabilità senza subire alcuna pressione selettiva.

9.9.5 Selezione naturale e fitness

Abbiamo già visto come la teoria darwiniana dell'evoluzione debba essenzialmente giustificare due fenomeni: l'origine della diversità degli esseri viventi e l'origine dell'adattamento degli stessi all'ambiente. La risposta di Darwin a questo secondo punto è che in un ambiente in cui le risorse non sono sufficienti si instaura una lotta per la sopravvivenza. Il risultato di questa competizione è che gli individui che possiedono la combinazione genica più efficiente relativamente ad un certo ambiente (cioè sono più adatti) hanno maggiori probabilità di sopravvivere e di riprodursi, trasmettendo le loro caratteristiche genetiche alle generazioni successive. Questo meccanismo è chiamato da Darwin **selezione naturale** e porta ad un progressivo **adattamento** della popolazione al suo ambiente.

La capacità di sopravvivere fino a riprodursi è dunque un aspetto fondamentale, tanto che oggi si preferisce descrivere la selezione naturale come una *differenza nel tasso di riproduzione* (differente successo riproduttivo) degli organismi di una popolazione in un determinato ambiente, piuttosto che come una lotta per la sopravvivenza.

La probabilità che un genotipo ha di sopravvivere e di riprodursi relativamente ad un certo ambiente, viene misurata ed è chiamata **fitness darwiniana (w)**. La fitness è una misura dell'efficienza riproduttiva di un genotipo.

Un medesimo genotipo potrà avere fitness diverse in ambienti diversi.

La fitness darwiniana (o riproduttiva) non va confusa con la "fitness fisica". Un individuo può essere forte, sano ed intelligente, ma se è sterile la sua fitness riproduttiva è nulla.

Così un carattere che raddoppia la fecondità di un individuo e contemporaneamente ne dimezza la vita, comunque ne aumenta la fitness.

La fitness si misura in termini relativi di un genotipo rispetto ad un altro. Il genotipo che ha la maggior probabilità di sopravvivenza riproduttiva ha fitness = 1, gli altri presentano fitness inferiori all'unità.

Ad esempio possiamo calcolare la fitness relativa dei genotipi AA, Aa ed aa sulla base della loro sopravvivenza o fecondità differenziale nell'arco di una generazione (dati demografici)

Genotipi	AA	Aa	aa	totale
Numero di individui parentali	40	50	10	100
Numero di individui prodotti in F ₁ da ciascun genotipo	80	90	10	180
Numero medio di individui generati da ciascun genotipo in F ₁	80/40=2	90/50=1,8	10/10=1	
Fitness	2/2 = 1	1,8/2 = 0,9	1/2 = 0,5	

Una misura correlata alla fitness è il **coefficiente di selezione (s)**, definito come $s = 1 - w$.

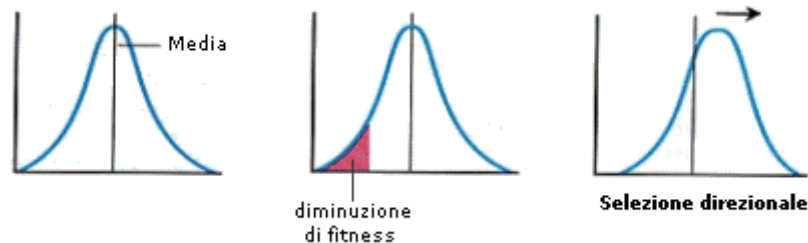
Il coefficiente di selezione misura la riduzione di fitness per un dato genotipo rispetto a quello con fitness massima (per geni letali $w = 0$ ed $s = 1$).

Nell'esempio precedente il genotipo Aa presenta fitness = 0,9 (probabilità di sopravvivenza e riproduzione pari al 90% rispetto al genotipo AA con fitness massima) e quindi un coefficiente di selezione = 0.1 (probabilità di sopravvivenza e riproduzione del 10% in meno rispetto al genotipo AA con fitness massima).

Da un punto di vista molto generale si possono distinguere tre modalità attraverso le quali agisce la selezione naturale: selezione direzionale, divergente e stabilizzante.

Ciascuno di questi tre tipi di selezione agisce modificando la distribuzione di frequenza (gaussiana) di un determinato carattere all'interno di una popolazione.

Si parla di **selezione direzionale** quando la selezione naturale favorisce gli individui che si trovano ad uno dei due estremi dell'intervallo di variabilità del carattere (individui rari). Questi individui che prima erano poco frequenti nella popolazione, iniziano a godere di un vantaggio adattativo e diventano più numerosi. L'effetto è uno spostamento laterale della gaussiana nella direzione degli individui premiati dalla selezione naturale.



Un esempio classico di selezione direzionale è quello avvenuto a carico di ***Biston betularia***, una farfalla che presenta un allele dominante per il colore nero (forma melanica) ed uno recessivo per il colore chiaro. Prima dell'avvento della rivoluzione industriale in Gran Bretagna le farfalle chiare erano favorite poiché si mimetizzavano più facilmente sui tronchi degli alberi (betulle) e sui muri, evitando di essere predate dagli uccelli.

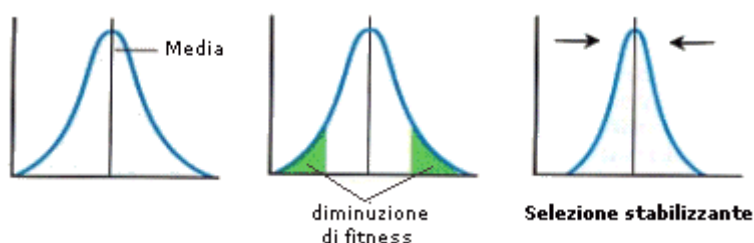
Quando nella seconda metà dell'Ottocento la fuliggine e lo smog che accompagnarono l'industrializzazione ebbero annerito gran parte degli alberi e delle case, le farfalle chiare divennero facile preda, mentre le farfalle scure vennero favorite essendo più adatte al nuovo ambiente (melanismo industriale).

Esempi di selezione direzionale sono anche la comparsa della **resistenza agli antibiotici** in certi batteri, o agli insetticidi e agli anticrittogamici nei parassiti. In realtà non sarebbe dunque corretto parlare di una "comparsa". Gli alleli responsabili della resistenza sono già presenti in alcuni individui che però sono inizialmente in numero esiguo nella popolazione. Quando la popolazione viene trattata (con antibiotici, antiparassitari etc), vengono in pratica selezionati solo gli individui già geneticamente resistenti. Questi sono gli unici che riescono a riprodursi e diverranno preponderanti nelle generazioni successive.

Quando la selezione naturale favorisce entrambe le forme estreme dell'intervallo di variabilità si parla di **selezione divergente**. La gaussiana tende ad aprirsi formando due distribuzioni a campana sovrapposte.



Si parla infine di **selezione stabilizzante** quando vengono favoriti gli individui intermedi. In questo caso la gaussiana tende ad alzarsi e a restringersi intorno alla media.



Il numero delle uova deposte dagli uccelli è un esempio di selezione stabilizzante. In genere il numero di uova deposte è determinato geneticamente in ogni specie. Si è potuto osservare sperimentalmente che gli uccelli che depongono un numero di uova conforme alla media della loro specie, hanno un maggior numero di nati che sopravvivono, rispetto agli individui della stessa specie che producono un numero maggiore o minore di uova.

Sorprendentemente ciò accade anche negli esseri umani dove attualmente la media del peso corporeo alla nascita è di 3.2 kg. ed i neonati più grossi e quelli più piccoli hanno una minor probabilità di sopravvivenza rispetto a quelli con peso medio.

La selezione stabilizzante viene a volte confusa con la selezione bilanciata.

La **selezione bilanciata** è una particolare forma di selezione naturale che favorisce il mantenimento di diversi alleli di uno stesso gene all'interno di una popolazione. Se ne ha un esempio nei casi di vantaggio eterozigote (o sovradominanza) e di selezione dipendente dalla frequenza.

Il **vantaggio eterozigote** si manifesta quando un individuo eterozigote per un particolare locus è più adatto alla sopravvivenza di un individuo omozigote. È questo il caso ad esempio della drepanocitosi (anemia falciforme). Gli individui che sono omozigoti per l'allele recessivo, presentano l'emoglobina mutata (emoglobina S) e risultano affetti dal disturbo (globuli rossi a forma di falce). Al contrario, un individuo eterozigote sarà caratterizzato solo da lievi imperfezioni nella forma delle cellule sanguigne, che le rendono tuttavia resistenti alla malaria. Questa forma di resistenza è favorita dalla selezione naturale nelle regioni tropicali, dove la diffusione della malaria (causata dal parassita *Plasmodium falciparum*) rende la situazione eterozigote molto favorevole dal punto di vista evolutivo. In questo modo le frequenze dei fenotipi omozigoti ed eterozigoti si mantengono relativamente stabili.

Si parla in particolare di **polimorfismo bilanciato** quando la selezione bilanciata che agisce all'interno di una popolazione è in grado di mantenere una frequenza relativamente stabile di due o più forme fenotipiche.

9.10 Speciazione

L'insieme dei fenomeni che portano alla nascita di una nuova specie è detto **speciazione**.

La speciazione può essere filetica o divergente.

La **speciazione filetica** (o anagenesi) agisce in modo lineare attraverso la lenta, trasformazione di una specie in un'altra che sostituisce la prima. In questo caso la specie si adatta all'ambiente che cambia gradualmente e si trasforma anch'essa di conseguenza. Se questo fosse stato l'unico tipo di speciazione ovviamente oggi la terra sarebbe popolata da un'unica specie. Più interessante per i biologi è invece la **speciazione divergente** in cui una specie genera due (**cladogenesi**) o più (**radiazione adattativa**) linee filetiche che evolvono in altrettante specie.

La radiazione adattativa è uno dei fenomeni evolutivi meglio documentati dai fossili. Secondo alcuni autori essa rappresenta la principale modalità di speciazione. Si presenta nei reperti fossili come una vera e propria esplosione evolutiva, con l'improvvisa comparsa di numerose nuove specie aventi tutte un antenato in comune.

La radiazione adattativa è in genere associata all'apertura improvvisa di una nuova frontiera biologica, dove una specie viene ad avere a disposizione numerose e diversificate nicchie ecologiche da colonizzare.

Il termine **nicchia ecologica** designa l'insieme delle attività e dei rapporti che ogni specie intrattiene con il suo habitat e le particolari specializzazioni adottate per sfruttarlo. In questo modo mentre possono coesistere più specie in uno stesso habitat, due specie non possono, per definizione, occupare la stessa nicchia ecologica.

Così, ad esempio, nelle grandi praterie dell'Africa convivono molti mammiferi erbivori, i quali non entrano però in competizione per il cibo, occupando nicchie diverse. Le zebre si cibano della parte superiore delle erbe alte, gli gnu della parte media, le gazzelle delle erbe basse e dei frutti caduti.

La radiazione adattativa si può verificare quando

- sono rese disponibili nuove nicchie, non precedentemente occupate. È il caso della colonizzazione da parte delle prime piante e dei primi animali della terraferma.

- si liberano improvvisamente nicchie precedentemente occupate. L'esempio più eclatante si ha con la radiazione dei mammiferi, i quali, dopo aver coabitato per milioni di anni all'ombra dei grandi rettili, sono letteralmente esplosi al momento della loro estinzione, occupando molte delle nicchie liberatesi.
- le nuove specie risultano più adatte ad occupare vecchie nicchie e si sostituiscono a chi le occupa. Un esempio si è avuto con la sostituzione in sudamerica dei carnivori marsupiali indigeni con i carnivori placentati provenienti dal nord, probabilmente migliori predatori.

La speciazione divergente avviene quando alcune popolazioni che costituiscono una specie si trasformano in nuove specie.

Ricordiamo che la specie è definita come un insieme di individui interfecondi ed i cui membri non possono avere incroci fertili con gli individui appartenenti ad un'altra specie. Dunque la condizione indispensabile affinché una o più popolazioni all'interno di una specie si separino fino a diventare esse stesse nuove specie, è che tra le due popolazioni vi sia un'interruzione del flusso genico. In altre parole se tra due popolazioni appartenenti ad una stessa specie, si produce un **isolamento riproduttivo** che impedisca ai loro membri di scambiarsi geni, le eventuali differenze tra i due pool genici possono mantenersi ed eventualmente approfondirsi fino a rendere i due pool genici incompatibili al punto da formare due nuove specie.

L'isolamento riproduttivo viene dunque considerato dai biologi la condizione indispensabile affinché avvenga il processo di speciazione. Si ritiene che nella maggior parte dei casi l'isolamento riproduttivo sia una diretta conseguenza dell'instaurarsi di un isolamento geografico tra popolazioni di una stessa specie. Questo processo viene definito speciazione allopatrica (altra patria).

In particolari circostanze l'isolamento riproduttivo può manifestarsi anche senza un isolamento geografico ed in tal caso si parla di speciazione simpatica (stessa patria).

Nella **speciazione allopatrica** le nuove specie si formano come conseguenza di un processo di diversificazione tra due o più popolazioni appartenenti ad un'unica specie, le quali si adattano ad ambienti diversi.

Molto spesso la diversificazione di una specie in diverse popolazioni segue una distribuzione geografica. Le variazioni fenotipiche sono cioè correlate alle graduali modificazioni di temperatura, umidità, o di qualche altra condizione ambientale.

Tale variazione graduale in un carattere o in un gruppo di caratteri è detta **cline**. Molte specie presentano caratteristici clini nord-sud. Ogni popolazione distinguibile all'interno di un cline prende il nome di **ecotipo**. E' stato possibile dimostrare che le differenze tra ecotipi sono in parte genetiche e quindi utilizzabili dalla selezione naturale per il processo evolutivo.

Le barriere geografiche possono naturalmente essere di moltissimi tipi. I luoghi in cui tipicamente si sviluppano nuove specie sono ad esempio le isole. La separazione dell'Australia dal resto dei continenti ha prodotto al suo interno un indirizzo evolutivo particolare a diverso rispetto al resto del mondo. A tutt'oggi sono stati studiati centinaia di casi di speciazione allopatrica nelle isole, soprattutto in quelle dell'oceano Pacifico (Samoa, Tahiti, Marchesi, Hawai, Galapagos, etc.).

Esempi divenuti ormai classici, riportati dallo stesso Darwin, sono quelli che si riferiscono alle diverse specie di fringuelli e di tartarughe che vivono sulle isole Galapagos. Le 14 specie di fringuelli che si trovano attualmente su queste isole si sarebbero originate da una popolazione di fringuelli terricoli provenienti dal vicino continente i quali, separati geograficamente sulle diverse isole, avrebbero dato l'avvio ad un intenso processo di speciazione allopatrica.

Le popolazioni di molti organismi, tuttavia, possono venire separate da barriere meno drastiche degli oceani. Per una pianta può diventare un'isola la vetta di una montagna, e per un pesce un piccolo stagno.

Una volta separata la popolazione isolata, che probabilmente sarà già geneticamente diversa per effetti di deriva genetica, può iniziare a divergere ulteriormente, sotto la pressione delle diverse forze selettive, adattandosi al nuovo ambiente.

Quando le differenze tra il pool genico delle due popolazioni si è modificato al punto tale che non è possibile alcun incrocio fertile anche se le due popolazioni vengono riportate in contatto, il processo di speciazione può dirsi concluso.

I casi di **speciazione simpatica** sono ritenuti meno probabili e quindi meno frequenti nella storia evolutiva.

La speciazione simpatica si può produrre quando insorgono meccanismi di isolamento riproduttivo, all'interno di una popolazione, senza che vi sia un isolamento geografico, per cui una parte della popolazione comincia a presentare un modo di vita differente rispetto al resto.

Meccanismi di questo tipo si dividono in due gruppi. I meccanismi di isolamento riproduttivo che agiscono prima dell'incrocio, impedendolo, sono detti **meccanismi precopula o prezigotici**. I meccanismi di isolamento riproduttivo che agiscono dopo l'accoppiamento sono detti **meccanismi post-copula o post-zigotici**.

Sono esempi di meccanismi prezigotici i meccanismi etologici di isolamento riproduttivo in cui gli individui presentano diversi comportamenti sessuali (periodi diversi di accoppiamento, diversi segnali di corteggiamento etc)

Vengono considerati meccanismi post-zigotici tutti i meccanismi fisiologici di isolamento come l'incompatibilità degli organi riproduttivi, l'incompatibilità dei gameti, la produzione di uno zigote non in grado di svilupparsi, ma anche la generazione di una prole non in grado di raggiungere la maturità sessuale o non fertile (ibridi sterili).

Un interessante esempio di speciazione simpatica viene proprio dagli ibridi e dalla **poliploidia**.

Con il termine 'ibrido' si intende qui individui provenienti dall'incrocio di specie differenti. Gli ibridi sono quasi sempre sterili poiché la serie di cromosomi di provenienza paterna non trova nella serie materna i propri omologhi, e non sono quindi in grado di appaiarsi durante la meiosi che non risulta per questo motivo possibile.

Gli ibridi si possono generare tra gli animali, ma sono molto più frequenti nelle piante. La gramigna ad esempio è un'erba che forma con facilità ibridi con molte piante affini. Tali ibridi, che si diffondono in maniera agamica (asessuata), mediante rizomi, sono a volte molto meglio adattati rispetto alle piante originarie.

Nelle piante spesso accade che un ibrido sterile sia in grado di produrre un individuo fertile per poliploidia. La poliploidia si ha quando il corredo cromosomico dell'individuo presenta un numero di serie di cromosomi omologhi superiore a due, tre negli individui triploidi $3n$, quattro nei tetraploidi $4n$, e così via.

La poliploidia è un evento raro negli animali, dove si riscontra per lo più in alcuni crostacei e coleotteri, mentre è molto diffusa nelle piante.

La poliploidia si origina per un errore durante la mitosi, con i cromosomi che si dividono, mentre la cellula non entra in citodieresi.. Sperimentalmente si può ottenere tale risultato con l'impiego della colchicina, un alcaloide che blocca la migrazione dei cromosomi ai due poli della cellula.

Se la poliploidia si verifica in un ibrido sterile, ogni cromosoma sarà presente due volte, i cromosomi duplicati potranno comportarsi come due omologhi, la meiosi diverrà possibile ed il nuovo individuo sarà fertile.

Oggi si ritiene che circa la metà delle piante con fiori abbia avuto un'origine poliploide. Un'importante esempio è dato dal frumento attuale, una pianta esaploide che si ritiene abbia avuto origine dalla combinazione di tre antenati diploidi diversi.

Molto spesso la poliploidia è accompagnata da un aumento delle dimensioni della pianta, caratteristica spesso utilizzata per produrre piante con frutti particolarmente grandi.

Un altro esempio di speciazione simpatica si ha nelle specie parassite che riconoscono il loro bersaglio grazie alla presenza di alcuni geni che permettono loro di individuare chimicamente l'ospite da parassitare. In alcune specie si è potuto osservare la comparsa, per mutazione dei

geni che codificano le proteine identificatrici, di individui in grado di riconoscere un ospite diverso, creando improvvisamente un isolamento riproduttivo rispetto agli individui non mutati.

9.11 Coevoluzione, convergenza evolutiva e preadattamento

Abbiamo già avuto modo di sottolineare il fatto che l'evoluzione rappresenta un progressivo fenomeno di adattamento delle specie alle diverse condizioni ambientali. Qui vogliamo dare alcuni esempi particolarmente significativi di adattamento.

Si configura un processo di **coevoluzione**, quando due o più specie interagiscono tanto strettamente da costituire ognuna un forte fattore selettivo per l'altra. In tal modo le due specie si adattano reciprocamente. Così, ad esempio, una modificazione intervenuta nella preda produce un corrispondente adattamento nel predatore e viceversa.

In alcuni casi il processo è così stretto che le *specie* diventano interdipendenti al punto che l'esistenza dell'una è univocamente condizionata dall'esistenza dell'altra e viceversa. Un esempio tipico è quello di alcune specie vegetali i cui fiori possono essere impollinati solo da una specie di insetti, i quali, a loro volta si cibano solo di quella specie vegetale. Nel caso in cui risultino associati organismi completamente dipendenti l'uno dall'altro si parla di "simbiosi obbligata" o "mutualismo".

La **convergenza evolutiva** si presenta quando specie diverse abitano lo stesso ambiente o ambienti simili. In tal caso le specie possono essere sottoposte a pressioni selettive dello stesso tipo e finiscono quindi per assomigliarsi, presentando un'analogia (non omologia) di forme e di strutture, senza derivare per questo da un antenato comune.

Un esempio classico di adattamento ad uno stesso ambiente, in questo caso il mare, si ha con lo sviluppo di una forma idrodinamica e di arti adatti al nuoto da parte di animali marini molto diversi come pesci, mammiferi (foche, balene, delfini), uccelli (pinguini) e rettili (ittiosauro).

In molti casi la convergenza evolutiva si verifica anche tra aree geografiche diverse, caratterizzate però da habitat e nicchie ecologiche sostanzialmente simili.

L'Australia offre senza dubbio l'esempio più eclatante di convergenza evolutiva. Questo continente, rimasto isolato dagli altri in tempi molto remoti, è stato colonizzato da mammiferi molto primitivi (monotremi e marsupiali), mentre negli altri continenti sono invece comparsi i più evoluti placentati.

I due gruppi hanno però occupato nicchie ecologiche quasi uguali ed oggi esistono degli analoghi in Australia dei principali mammiferi europei e americani. Molti di questi marsupiali hanno un aspetto così simile ai loro equivalenti placentati che i primi coloni europei li hanno chiamati con lo stesso nome, non essendo in grado di distinguerli.

Così il formichiere australiano presenta un muso allungato ed una lunga lingua vischiosa come il formichiere placentato ed il petauro volante è praticamente identico allo scoiattolo volante americano. Nonostante gli esempi siano molto numerosi esistono casi di divergenza. Ad esempio il canguro occupa in Australia la stessa nicchia ecologica occupata dagli equidi, senza per questo presentare con essi alcuna somiglianza.

Quando una struttura preesistente viene utilizzata per svolgere una funzione diversa da quella iniziale si dice che essa era preadattata alla nuova funzione ed il fenomeno prende il nome di **preadattamento**.

Certe strutture appaiono spesso troppo complesse per accettare l'idea che abbiano svolto fin dalla loro comparsa la funzione attuale. Per questo motivo si suppone che inizialmente svolgessero una funzione diversa e solo in un secondo momento si siano ulteriormente modificate per adattarsi ad una funzione diversa.

Il preadattamento è evidentemente un fatto casuale. Non possiamo certo distinguere all'interno degli esseri viventi odierni quali delle loro strutture attuali siano preadattate per svolgere un'altra funzione. Tuttavia alcune considerazioni possono essere fatte osservando le trasformazioni avvenute nelle linee filetiche dei fossili.

Così nell'evoluzione degli artropodi, prima che essi abbandonassero il mare, il primitivo rivestimento esterno di chitina aveva evidentemente una funzione di difesa contro i predatori. In seguito esso è stato utilizzato dagli artropodi terrestri per limitare l'evaporazione dell'acqua.

In modo analogo le branchie dei pesci avevano inizialmente solo una funzione trofica, filtrando l'acqua allo scopo di trattenere le particelle alimentari. Col procedere dell'evoluzione alcune pressioni selettive, legate probabilmente alla predazione, hanno determinato la comparsa di un tegumento protettivo più robusto, spesso provvisto di scaglie. Ciò però ha eliminato progressivamente la possibilità di rifornirsi di ossigeno direttamente dall'epidermide, creando una pressione selettiva in favore di altri meccanismi respiratori.

Il preadattamento viene considerato un importante meccanismo a disposizione della selezione naturale. D'altra parte è necessario rendersi conto che gli esseri viventi non sono progettati ex novo, partendo da zero, ma si evolvono a partire da strutture preesistenti.

Nei pesci primitivi ad esempio l'apertura boccale è fissa, non articolata in mascella e mandibola. In seguito le ossa che inizialmente si trovavano a proteggere le branchie vennero più convenientemente utilizzate per diventare mascelle articolate.

Nei rettili, discendenti dei pesci le mascelle sono formate da più ossa. Nei mammiferi, che discendono dai rettili, le mascelle sono formate da un unico pezzo. Nei fossili dei primi mammiferi si può osservare una progressiva miniaturizzazione delle altre ossa mascellari, che vengono infine utilizzate come ossicini nell'orecchio (staffa, incudine e martello).

Noi sentiamo con le ossa con cui i nostri antenati rettili masticavano e i rettili masticano con le ossa con cui i loro antenati pesci respiravano.

Ma non sempre le strutture preesistenti hanno modo di essere utilizzate. A volte certe strutture non trovano un'efficiente utilizzazione durante il processo evolutivo e spesso restano come caratteri vestigiali, a testimonianza del passato. Così l'uomo si ritrova con il coccige, termine con cui si indicano le ultime quattro vertebre saldate insieme, residuo della coda dei nostri antenati. L'appendice è un residuo di una sacca digestiva supplementare presente in alcuni erbivori, come il cavallo ed i roditori. Le ossa delle zampe posteriori della balena e quelle dei serpenti si trovano come piccoli ossicini all'interno del corpo dell'animale.

La piccola piega semicircolare che si trova nell'angolo interno dell'occhio umano è ciò che resta della terza palpebra, detta membrana nittitante, ancora ben sviluppata in molti anfibi, rettili ed uccelli, in cui svolge una funzione protettiva.

9.12 Modelli evolutivi: gradualismo filetico ed equilibri punteggiati

Il gradualismo filetico è il modello dominante all'interno della teoria sintetica. I suoi sostenitori affermano che i cambiamenti nella forma e nella struttura di un individuo si attuano lentamente ed impercettibilmente nel corso dell'evoluzione, come lo stesso Darwin aveva suggerito.

Ma se la trasformazione di una specie in un'altra fosse effettivamente un processo graduale e sfumato, i fossili dovrebbero documentarlo con numerose specie intermedie. In realtà, a tutt'oggi sono molto pochi i ritrovamenti fossili che documentano l'esistenza di linee evolutive in graduale trasformazione.

I biologi gradualisti attribuiscono la presenza di lacune (anelli mancanti) nelle linee filetiche a 'buchi' nella documentazione fossile. In altre parole gli anelli che ancora mancano per ricostruire gli alberi genealogici delle diverse specie, o non sono ancora stati scoperti, o non verranno mai scoperti perché non si sono verificate le condizioni adatte alla fossilizzazione.

Nel 1972 due paleontologi americani, Niles Eldredge e Stephen Jay Gould, ipotizzarono che la mancanza di forme intermedie non fosse da imputare alla incompletezza dei ritrovamenti, ma riflettesse effettivamente la vera natura del processo evolutivo.

La **teoria degli equilibri punteggiati** (o puntuali o intermittenti), da essi proposta, ipotizza che le specie rimangano stabili per lunghi periodi (periodi di equilibrio). La stabilità è però interrotta o "punteggiata" da modifiche rapide e radicali che portano infine alla comparsa improvvisa di una nuova specie.

Secondo i sostenitori di questo modello evolutivo, la maggior parte dei cambiamenti sarebbe concentrata nelle prime fasi della vita di una specie, in un lasso di tempo che equivale all'1% della durata della vita della specie in questione, secondo il modello di speciazione allopatrica

che, come abbiamo visto, prevede una "rapida" speciazione nelle popolazioni isolate di piccole dimensioni.

È importante ricordare che, quando si parla di brevi periodi, ci si riferisce comunque a decine di migliaia di anni: la vita di una specie dura, infatti, mediamente alcuni milioni di anni.

Ad un'evoluzione lenta e graduale essi contrappongono quindi un'evoluzione a scatti.

Secondo questo nuovo modello le nuove specie si formerebbero in piccole popolazioni, accumulando rapidamente nuove modificazioni ed adattamenti, fino trasformarsi in una nuova specie.

A questo punto la nuova specie e quella vecchia rimarrebbero inalterate. Ma nel caso la nuova specie entri in competizione con la prima e risulti più adatta, dopo un breve periodo di coesistenza, la sostituisce decretandone l'estinzione.

In questo modo la teoria degli equilibri punteggiati sposta il processo selettivo a livello di specie. La selezione sarebbe in grado dunque di eliminare una specie perché meno adatta e di sostituirla con un'altra più adatta.

Il processo di nascita selezione e morte dell'individuo, viene qui sostituito con quello di speciazione: selezione ed estinzione della specie.

9.13 Le prove dell'evoluzione

I biologi hanno accumulate un numero molto elevato di elementi che confermano la sostanziale validità della teoria evoluzionistica. Tra queste ricordiamo le più eclatanti, desunti da discipline diverse, a testimonianza del fatto che oramai la teoria sintetica dell'evoluzione rappresenta un comune punto di riferimento per gli studi biologici.

- *paleontologia*

Essendo oggi possibile procedere ad una datazione assoluta dei fossili, tramite rilievi radiometrici, si può facilmente constatare che i fossili più antichi appartengono ad esseri viventi meno complessi dei fossili più recenti. La complessità delle forme e delle strutture viventi è dunque una conquista evolutiva.

- *anatomia comparata*

Osservando organi omologhi di classi diverse di esseri viventi, è possibile, pur nell'apparente diversità. Rilevare una struttura comune, uno stesso progetto sviluppato con diverse variazioni sul tema, come se ciascuna classe si fosse sviluppata da un comune progenitore.

Le strutture omologhe sono parti di organismi di gruppi sistematici diversi che sono composte da elementi simili per forma e numero ed hanno rapporti anatomici simili. Se ad esempio analizziamo la struttura ossea interna degli arti dei vertebrati, scopriamo che il loro scheletro può essere ricondotto ad un unico modello formato da tre segmenti composti dagli stessi pezzi. Il segmento prossimale (quello attaccato al corpo) è composto da un unico pezzo (omero/femore) il segmento mediano è composto di due pezzi (radio/tibia - ulna/perone); il segmento distale, che corrisponde alla mano e al piede è formato da un numero maggiore di ossa, variabile in funzione dei diversi adattamenti verificatisi.

Tutti i vertebrati hanno quattro arti e non sei, né otto o venti. Tutti i mammiferi hanno sette vertebre cervicali. Se ogni animale fosse stato costruito ex novo non ci sarebbe ragione alcuna perché l'elefante debba presentare la stessa struttura corporea di un topo

- *embriologia comparata*

Confrontando embrioni differenti, ad esempio quelli delle classi dei vertebrati prima citati, nei primissimi stadi di sviluppo, si osserva una somiglianza impressionante. In tutti sono ad esempio presenti le fessure branchiali e la coda, anche in quelli che nella forma adulta non presentano tali caratteristiche.

Negli embrioni degli uccelli e delle balene, animali che da adulti sono privi di denti, compaiono degli abbozzi dentali che poi regrediscono.

Anche in tal caso si è indotti a pensare che il modello fondamentale della struttura corporea risalga ad un antico antenato comune.

Inoltre lo studio dell'embriologia comparata ha messo in evidenza come le strutture generiche, quelle comuni a molte specie e che permettono di stabilire l'appartenenza alle categorie sistematiche superiori (genere, famiglia etc.) compaiano prima di quelle specializzate, che determinano l'appartenenza ad una categoria inferiore.

Così nell'embrione umano compaiono prima le caratteristiche dei vertebrati, ad esempio l'abbozzo della colonna vertebrale, poi le caratteristiche dei mammiferi, come il pelo, ed infine le caratteristiche umane, come l'abbozzo del mento.

Tanto più lungo è il periodo dello sviluppo embrionale durante il quale embrioni di specie diverse si assomigliano, tanto più stretto si deduce essere il loro grado di parentela.

- *citologia*

Non può essere ritenuto un caso che, ad eccezione dei virus e dei procarioti, tutti gli esseri viventi siano costruiti tramite mattoni praticamente identici: le cellule. Le cellule di tutti gli eucarioti presentano infatti la stessa organizzazione strutturale e funzionale.

- *biochimica*

Anche le sostanze chimiche complesse, necessarie alla sopravvivenza degli esseri viventi sono praticamente le stesse per tutte le specie. Il codice genetico nel quale sono immagazzinate tutte le informazioni necessarie alla vita è universale: il significato delle triplette è lo stesso per tutti gli esseri viventi.

Le proteine risultano inoltre avere una struttura molto simile in gruppi sistematici molto vicini.

9.14 Evoluzione ed idea di progresso

Il concetto di evoluzione ha sempre portato con sé l'idea di progresso, confermata in un certo qual modo dal fatto che gli esseri viventi che si sono succeduti nel tempo erano via via più grandi, più complessi e sofisticati.

Ciò è vero nella misura in cui l'evoluzione ha prodotto i risultati migliori rispetto a determinate condizioni ambientali, portando necessariamente modificazioni negli organismi al fine di un miglior adattamento al loro ambiente.

Ma è necessario tener presente che l'evoluzione è un processo casuale, che agisce attraverso la selezione naturale su materiale già presente e non sempre ottimale per essere adattato alle diverse e nuove esigenze ambientali.

Così, oltre ad organi perfettamente adattati che vengono proposti come esempi della perfezione raggiunta dall'evoluzione (l'occhio ad esempio), vi sono strutture poco efficienti che probabilmente un ingegnere o un architetto ridisegnerebbero completamente.

Molti problemi umani come le difficoltà a partorire o la tendenza a soffrire di mal di schiena possono essere fatte risalire, ad esempio, al passaggio alla stazione eretta di una struttura scheletrica precedentemente adattata alla postura quadrupede.

Gould, il teorico degli equilibri intermittenti, afferma che la presenza di queste 'imperfezioni' tra gli esseri viventi sono prove molto più convincenti dell'evoluzione di quanto lo siano gli esempi solitamente citati di adattamenti perfetti.

Inoltre, visto che l'evoluzione tende a modificare una specie in modo da raggiungere il miglior compromesso possibile tra esigenze ambientali ed una serie di limitazioni strutturali ereditate dalla storia evolutiva passata dell'organismo, dobbiamo affermare che tutte le specie, per il fatto di esistere, sono attualmente il miglior esempio di adattamento alla propria nicchia.

Dunque poiché tutte le specie sono adattate alla loro nicchia è difficile in biologia dire qual è l'essere vivente più progredito.

È più progredita una scimmia o l'uomo? Se pensiamo allo sviluppo del cervello, certamente l'uomo, ma se pensiamo alla capacità di sopravvivere in una foresta, certamente la scimmia.

In definitiva in biologia l'idea di progresso è un concetto di difficile applicazione, che può facilmente essere frainteso o dar luogo a false interpretazioni.

Per questo motivo al termine progresso si sostituiscono termini più tecnici e di significato più limitato o convenzionalmente definito, come i termini "semplice/complesso" o "primitivo/evoluto".

Un organismo si *dice* più **complesso** di un altro quando, in riferimento alla loro organizzazione strutturale e funzionale , sono rilevabili un maggior numero di parti differenziate.

I termini "**primitivo/evoluto**" descrivono il livello di trasformazioni che un organismo o una sua parte hanno subito rispetto all'antenato. Così un batterio è un organismo primitivo essendo rimasto praticamente immutato da quando è comparso sino ad oggi. D'altra parte la zampa di un cavallo è più evoluta rispetto alla mano dell'uomo, rimasta praticamente immutata nel corso dell'evoluzione. La zampa del cavallo ha infatti subito un maggior numero di modificazioni e si è maggiormente **specializzata** a compiere una funzione. Esistono esseri viventi che, essendosi adattati ad ambienti che non hanno subito praticamente alcuna modificazione da milioni di anni, sono rimasti immutati per periodi altrettanto lunghi.

Si tratta di specie primitive a volte chiamate fossili viventi, come il limulo, un artropode molto simile agli antichi trilobiti ora estinti, o la *Ginkgo biloba*, una gimnosperma rimasta praticamente uguale da 200 milioni di anni.

